

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Colegiado do Curso de Pós-Graduação

**VIABILIDADE DO CONTROLE DA MASTITE CONTAGIOSA E DA
UTILIZAÇÃO DO ESCORE DE SUJIDADE DE ÚBERE E DE LESÕES DE
ESFÍNCTER DE TETOS NO MONITORAMENTO DO RISCO DE
OCORRÊNCIA DA DOENÇA**

LETICIA CALDAS MENDONÇA

Belo Horizonte - MG

2008

Letícia Caldas Mendonça

**VIABILIDADE DO CONTROLE DA MASTITE CONTAGIOSA E
DA UTILIZAÇÃO DO SCORE DE SUJIDADE DE ÚBERE E DE
LESÕES DE ESFÍNCTER DE TETOS NO MONITORAMENTO DO
RISCO DE OCORRÊNCIA DA DOENÇA**

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Clínica de Ruminantes.

Orientador: Prof. Dr. Lívio Ribeiro Molina.

Belo Horizonte - MG
Escola de Veterinária - UFMG

2008

**Dissertação defendida e aprovada em 25/03/08
pela comissão examinadora constituída por:**

Prof Dr. Lívio Ribeiro Molina
Orientador

Prof. Dr. Antônio Último de Carvalho

Prof. Dr. Euler Rabelo

DEDICATÓRIA

A Deus, fonte de vida, força e esperança.

A minha família, Moytha, Memé e Kell: de onde eu vim, para onde eu vou.

“Cumpadre meu que envelheceu cantando, diz que ruminando dá pra ser feliz...”
(Rolando Boldrim)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar meus caminhos e me dar força nos momentos em que quase enfraqueci;

A toda a minha família; pai, mãe, Kell, vó Duca, tia Miriam, tio Alexandre, vô Rubem, todos os primos e tios, pela paciência e motivação, por me fazerem acreditar que realmente sou capaz;

Ao Du, pela extrema paciência e compreensão.

Aos grandes amigos que sempre estiveram comigo. A Nera.

À equipe Unileite, pelo carinho e apoio.

Ao Ricardo Ventura, sua família e Laticínios Chapada, pela ajuda e abertura.

À Escola de Veterinária da UFMG e CNPQ.

A Pfizer Saúde Animal e Renato Faria.

Aos professores da Clínica de Ruminantes, Último, Elias e Paulo Marcos, pela acolhida e apoio.

E em especial, a duas pessoas fundamentais na caminhada e na conclusão de mais essa vitoriosa etapa:

Marianna Gentilini, que generosamente cedeu seu tempo, seu carinho, sua competência e sua linda família.

Professor Lívio Molina, que participou ativamente da construção da pessoa que sou hoje. Muito mais do que orientador, ele se preocupou em me ensinar não somente a ser veterinária, mas também a ser uma pessoa melhor. Minha gratidão eterna.

A todos que contribuíram para a realização deste projeto, muito obrigada.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	11
2.	REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1.	Programas de controle de mastite	12
2.2.	Microorganismos causadores de mastite contagiosa	13
2.3.	Utilização da CCS como parâmetro de monitoramento da ocorrência de mastite	16
2.4.	Escore de sujidade de úbere	17
2.5.	Escore de esfíncter de tetos	17
3.	MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1.	Propriedade	19
3.2.	Animais	19
3.3.	Identificação dos microorganismos causadores de infecção intramamária	19
3.4.	Blitz terapia contra <i>S. agalactiae</i> e descarte de animais portadores de <i>S. aureus</i>	20
3.5.	Avaliação da eficácia da terapia antimicrobiana contra <i>S. agalactiae</i>	20
3.6.	Contagem de células somáticas	20
3.7.	Produção de leite do rebanho	21
3.8.	Coleta de dados de escore de sujidade de úbere	21
3.9.	Coleta de dados de lesões de esfíncter e escore de esfíncter de teto	21
3.10.	Análises estatísticas	22
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1.	Perfil microbiológico e CCS	22
4.2.	Produção de leite e CCS	25
4.3.	Eficácia da Blitz Terapia contra <i>S. agalactiae</i>	25
4.4.	Blitz Terapia contra <i>S. agalactiae</i> e CCS	27
4.5.	Blitz Terapia contra <i>S. agalactiae</i> e produção de leite	30
4.6.	Escore de sujidade de úbere e CCS	30

4.7.	Escore de esfíncter de tetos e CCS	31
5.	CONCLUSÕES	33
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Resultado da cultura microbiológica do leite de vacas em lactação e porcentagem de prevalência de cada microorganismo isolado	22
Tabela 2	CCS do tanque de refrigeração nos meses anteriores a Blitz Terapia	23
Tabela 3	Valores médios de CCS das vacas para cada tipo de microorganismo isolado na cultura microbiológica	24
Tabela 4	CCS média das vacas nos tempos -7, 14 e 21 dias pós- tratamento	27
Tabela 5	Contribuição média, em porcentagem, de cada vaca portadora de <i>S. agalactiae</i> e do total de vacas portadoras na CCS do tanque de refrigeração, antes e depois do tratamento	28
Tabela 6	CCS do tanque de refrigeração no mês anterior e 21 dias após a Blitz Terapia e descarte dos animais portadores de <i>S. aureus</i>	29
Tabela 7	Produção de leite média dos animais tratados, 3 meses antes e 3 meses depois da Blitz Terapia	30
Tabela 8	Avaliação do escore de sujidade de úbere, em número e porcentagem de vacas por categoria	30
Tabela 9	Avaliação do escore de esfíncter de tetos, em número e porcentagem de quartos afetados	31
Tabela 10	Avaliação de lesões de esfíncter, de acordo com o número de tetos afetados	32

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1	Composição da fórmula do medicamento Tetra-Delta®	41
Anexo 2	Padrão de classificação de escores de sujidade de úbere	42
Anexo 3	Padrão de classificação de escores de esfíncter de tetos	42

LISTA DE ABREVIATURAS

%	= porcentagem
°C	= graus Celsius
CCS	Contagem de células somáticas
CBT	Contagem bacteriana total
UI	Unidades internacionais
UFC	Unidades formadoras de colônias
MG	Miligrama
MI	Militro
CMT	Califórnia Mastitis Test

RESUMO

Este estudo teve como objetivos avaliar a viabilidade do controle da mastite contagiosa, através do tratamento na lactação de vacas com mastite subclínica por *S. agalactiae* e descarte dos animais com mastite subclínica por *S. aureus*; e avaliar a viabilidade da utilização de escore de sujidade de úbere e da frequência de lesões de esfíncter de tetos no monitoramento do risco de ocorrência de mastite. O estudo foi realizado em rebanho comercial constituído de 114 vacas mestiças em lactação. O manejo de ordenha contemplava todas as práticas de higiene e limpeza adequadas dos tetos dos animais e dos utensílios. Durante a lactação, vacas positivas para *S. agalactiae* no exame microbiológico foram tratadas com 3 aplicações, em 3 ordenhas consecutivas, com antibiótico intramamário à base de penicilina e novobiocina (Tetra-Delta®), com intervalo de 12 horas. Vacas positivas para *S. aureus* foram descartadas assim que identificadas. Amostras de leite individual e do tanque de refrigeração foram analisadas para CCS e a produção de leite dos animais foi medida. Foram realizadas avaliações do escore de sujidade de úbere e da frequência de lesões de esfíncter de tetos em todas as vacas em lactação. Para as análises estatísticas, foi utilizado o programa estatístico SAEG 9.0. Todas as vacas tratadas contra *S. agalactiae* apresentaram cura microbiológica e redução da CCS em 63% e 74% aos 14 e 21 dias pós-tratamento, respectivamente. A CCS do tanque de refrigeração reduziu de 829.000 para 513.000 céls/ml. Os parâmetros escore de sujidade de úbere e frequência de lesões de esfíncter de tetos não se mostraram viáveis para monitoramento do risco de ocorrência de mastite.

Palavras-Chave: mastite, contagem de células somáticas, lesões de tetos, sujidade de úbere.

ABSTRACT

*This study aimed to assess the feasibility of controlling contagious mastitis, through treatment in milk from cows with subclinical mastitis by *S. agalactiae* and disposal of animals with subclinical mastitis by *S. aureus*, and assess the feasibility of using scores of dirt, udder and the frequency of injuries from sphincter of teats in monitoring the risk of mastitis. The study was conducted in commercial herd consists of 114 cows in milk. The management of milking include all hygienic practices and proper cleaning of the teats of animals and tools. During lactation, cows positive for *S. agalactiae* in microbiological examination were treated with 3 applications on 3 consecutive milkings, with intramammary antibiotic penicillin-based and novobiocina (Tetra-Delta ®), with an interval of 12 hours. Cows positive for *S. aureus* have been discarded so identified. Samples of milk and individual cooling of the tank were analyzed for CCS and the production of milk of animals was measured. Evaluations were carried out scores of dirt from the udder and the frequency of injuries from sphincter of teats in all dairy cows. For statistical analyses, was used statistical program SAEG 9.0. All cows treated against *S. agalactiae* were cured microbiological and reduction of CCS in 63% and 74% to 14 and 21 days after treatment, respectively. The CCS cooling of the tank reduced from 829,000 to 513,000 cells / ml. The parameters of udder score of dirt and frequency of injuries from sphincter of teats were not viable for monitoring the risk of mastitis.*

Keywords: *Mastitis, somatic cell count, injuries of sphincter of roofs, scores of dirt from udder*

1. INTRODUÇÃO

O Brasil configura-se como um dos grandes produtores e potenciais exportadores de leite no mundo devido ao grande aumento da exportação brasileira de lácteos que, de 4.303.508 kg de leite exportados no ano de 1997, passou para 96.578.547 kg e com produção anual de mais de 25 milhões de litros no ano de 2007. Uma das principais condições para que o Brasil se estabeleça definitivamente como exportador de leite é a garantia da qualidade do produto comercializado. As barreiras impostas pelos países desenvolvidos, quando se trata do comércio internacional de alimentos, tornam a questão da busca pela qualidade um objetivo muito maior do que a simples adoção de práticas de higiene; trata-se de uma mudança de paradigmas.

Para que essa mudança aconteça, muitas indústrias têm adotado sistemas de incentivo, através de pagamento pela qualidade do leite produzido. A maioria destes programas inclui como parâmetros a reduzida contagem de células somáticas (CCS), reduzida contagem bacteriana total do tanque de refrigeração (CBT) e a ausência de resíduos de antimicrobianos e outros inibidores no leite.

Para impulsionar ainda mais estes programas de incentivo à melhoria da qualidade do leite brasileiro, está em vigor no país desde julho de 2005 a Instrução Normativa 51 (Brasil, 2002), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que tem como objetivo estabelecer padrões de qualidade do leite cru refrigerado. A partir de 2011, nos estados do sul, sudeste e centro-oeste e a partir de 2012 nos estados do norte e nordeste, o leite produzido deve apresentar CCS menor que 400.000 céls/ml e CBT menor que 100.000 céls/ml, padrões similares aos utilizados nos países mais desenvolvidos do mundo. Com isso, tornar-se-á compulsória e não opcional a produção de leite com elevado padrão de qualidade.

Considerando não somente o ganho financeiro adquirido com a produção de leite de alto

padrão, a melhoria na qualidade deste produto reflete a maior eficiência da produção nas propriedades rurais e eleva o rendimento dos produtos lácteos na indústria. Conseqüentemente, esta eficiência beneficia o negócio destas empresas e tenderão a permanecer no mercado somente os produtores de leite e as indústrias com produtos de alto padrão de qualidade.

Microorganismos como *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Streptococcus agalactiae* (*S. agalactiae*) são importantes patógenos contagiosos causadores de mastite, cujo impacto negativo na produção de leite e na CCS do rebanho é conhecidamente expressivo. A CCS é considerada um indicador da saúde da glândula mamária: vacas saudáveis, não portadoras de mastite, apresentam CCS reduzidas. O controle destes agentes contagiosos é fundamental para a melhoria da condição de saúde da glândula mamária dos animais e conseqüentemente da produção de leite com qualidade. Com o aumento da pressão das indústrias para a produção de leite de alto padrão, a redução da CCS tem se tornado um objetivo comum entre os produtores de leite. A terapia de vaca seca, assim como o controle da transmissão destes patógenos durante as ordenhas podem ser utilizados para o alcance deste objetivo, mas os resultados só são expressivos em longo prazo. Por isso, pela urgência em se reduzir esse indicador e se enquadrar nos parâmetros exigidos, o tratamento da mastite subclínica durante a lactação pode ser considerada uma alternativa.

Escores de sujidade de úbere e frequência e severidade de lesões de esfíncter de tetos têm sido indicados como parâmetros de avaliação no monitoramento da ocorrência de mastite, já que as condições ambientais e de funcionamento do equipamento de ordenha são fatores de risco conhecidos para o aparecimento da doença e podem estar diretamente ligados a essas duas avaliações. A correlação entre lesões de esfíncter de tetos e CCS tem sido realizada com amostras individuais de tetos, o que torna onerosa e operacionalmente difícil a utilização desta

prática em condições de fazenda. A viabilidade do uso de amostras compostas para CCS correlacionadas à frequência e severidade de lesões de tetos por vacas, por ser mais barata e de fácil aplicação, deve ser considerada para utilização no campo em larga escala como parâmetro de monitoramento do risco da ocorrência de mastite em rebanhos leiteiros.

Este estudo teve como objetivos avaliar a viabilidade do controle da mastite contagiosa, através do tratamento na lactação de vacas portadoras de mastite subclínica por *S. agalactiae* e descarte dos animais portadores de mastite subclínica por *S. aureus*; e avaliar a viabilidade da utilização de escore de sujidade de úbere e da frequência de lesões de esfíncter de tetos no monitoramento do risco de ocorrência de mastite.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Programas de controle de mastite

O desenvolvimento de um programa adequado de controle de mastite deve levar em consideração dois pontos fundamentais: a prevenção de novos casos de mastite, clínica e/ou subclínica e a eliminação dos casos já existentes (Neave et al., 1966). Para que estes programas tenham sucesso, é necessário que eles custem menos do que as perdas causadas pela doença, sejam de fácil implantação, que possam ser utilizado sob variadas condições de manejo e que obtenham resultados fáceis de serem percebidos pelo produtor (Dodd et al., 1969). Os principais métodos de controle são a erradicação, a imunização, a terapia antimicrobiana, o descarte de vacas cronicamente infectadas e a melhoria de fatores de manejo (Dodd, 1982).

A partir da década de 70, o foco do controle da mastite, que antes estava no tratamento de casos clínicos, tornou-se mais abrangente, com estudos voltados para o desenvolvimento de programas e métodos de prevenção, controle e tratamento dos rebanhos (Keefe, 1997). Tais programas foram extensivamente estudados, com a inclusão de práticas como o pós-

dipping, a terapia de vaca seca, a detecção e tratamento imediatos de casos clínicos, a manutenção e limpeza dos equipamentos e utensílios de ordenha e o descarte de animais crônicos, que se tornaram peças-chave para programas de controle (Dodd et al., 1969). Mais tarde, a higiene e o conforto do ambiente de permanência dos animais foram incluídos na lista de práticas essenciais ao controle de mastite, consolidando um dos programas mais amplamente utilizados no mundo, chamado de Plano Compreensivo de Controle de Mastite ou Programa dos Seis Pontos. O objetivo é reduzir o número de novas infecções intramamárias e o tempo de duração das infecções existentes, sem o conhecimento dos microorganismos específicos que causam mastite num determinado rebanho (Natzke, 1981).

Este programa alcançou resultados satisfatórios, como aumento na produção de leite e redução no nível de infecções nos rebanhos (Natzke et al., 1972). Schukken et al. (1992) relataram os resultados de um programa de controle de mastite em fazendas em Ontário, Canadá, no ano de 1989. Em 9.500 propriedades leiteiras, com CCS de tanque variando entre 149.000 cél/ml a 900.000 céls/ml, a implantação das práticas de higiene de ordenha apresentou redução média mensal na CCS de 58.000 céls/ml. Na Bolívia, durante seis anos, em doze propriedades leiteiras, Brown et al. (1998) obtiveram redução na média de CCS de tanque de 1.200.000 cél/ml para 461.000 cél/ml, também aplicando o plano compreensivo de controle de mastite.

A associação de programas de controle com tratamento de casos subclínicos também foi estudada. Em 1999, Omere e colaboradores relataram os resultados de programas de controle de mastite realizado em propriedades leiteiras, comparando a adoção de três práticas diferentes: apenas higiene de ordenha; tratamento de casos subclínicos, diagnosticados através do CMT e CCS maior que 300.000 céls/ml; ou a associação dessas duas práticas. Os resultados demonstraram que apenas a associação das duas práticas resultou

em redução da prevalência de patógenos contagiosos de 63% para 18% nos rebanhos que as adotaram simultaneamente. Porém, nestes rebanhos que tiveram a prevalência reduzida, não foi possível identificar aumento significativo na produção de leite, redução de casos clínicos ou na CCS dos animais.

Um dos principais avanços no controle da mastite bovina foi o uso da identificação dos microorganismos causadores da doença, através de exames bacteriológicos em rebanhos (Natzke, 1981). A cultura microbiológica pode garantir a diferenciação entre animais sadios e doentes (Orpin, 2000) e indica de maneira bastante confiável a origem do problema, auxiliando na definição e implantação de estratégias direcionadas (Barret, 2002).

Um programa de penalizações por CCS foi implantado em propriedades do Canadá na década de 80. A grande pressão sofrida pelos produtores para melhoria da qualidade da matéria-prima desencadeou a busca pelo controle de mastite, com a determinação das bactérias predominantes nos rebanhos daquele país e conseqüente adoção de práticas de controle de acordo com os resultados dos exames microbiológicos. No início do projeto, 55% dos rebanhos eram infectados por *S. agalactiae* e esse índice foi reduzido para 7% após cinco anos. Resultado diferente foi encontrado para *S. aureus*, cujo índice de prevalência não reduziu neste período. Práticas como a terapia com antibióticos na lactação e no período seco surtiram efeito bastante positivo para *S. agalactiae*, mas não para *S. aureus* (Godkin, 2000).

A identificação de microorganismos em um programa de qualidade de leite foi utilizada no ano de 1999 em propriedades na Itália, visando redução da CCS do leite. O procedimento inicial era diferenciar a etiologia da alta CCS: microorganismos contagiosos ou ambientais. Caso o diagnóstico indicasse predominância de patógenos contagiosos, o protocolo previa segregação durante a lactação, tratamento antimicrobiano no período seco ou na lactação na presença de *S.*

agalactiae e descarte dos animais positivos para *S. aureus*. Caso o diagnóstico acusasse patógenos ambientais (coliformes, *Streptococcus* spp. exceto *S. agalactiae*), a intervenção era direcionada ao melhoramento das condições de ambiente e de ordenha e também à determinação de protocolos terapêuticos para o tratamento das formas agudas e crônicas da doença. Os resultados apontaram redução média na CCS de 787.000 céls/ml para 315.000 céls/ml; redução de quartos infectados por *S. agalactiae* de 17,0% para 6,2% e por *S. aureus* de 6,9% para 1,3% (Barberio et al., 1999).

Enquanto as práticas de higiene objetivam prevenir novas infecções, as terapias antimicrobianas na lactação e no período seco objetivam reduzir as infecções já instaladas. Apenas a associação das duas práticas pode alcançar o objetivo final, de reduzir a prevalência de mastite clínica e subclínica, nos rebanhos leiteiros (Philpot, 1979).

2.2 Microorganismos causadores de mastite contagiosa

A mastite contagiosa possui grande importância na prevalência das infecções intramamárias em rebanhos leiteiros, devido à sua característica de se disseminar facilmente entre os animais através de fômites, como as mãos dos ordenhadores, panos de secagem de tetos e principalmente os insufladores dos equipamentos mecânicos de ordenha. *S. agalactiae* e *S. aureus* são os mais importantes patógenos causadores deste tipo de mastite (Barret, 2002).

Segundo Wilson et al. (1997), *S. agalactiae* e *S. aureus* geram custos bastante altos quando se considera a perda de produção de leite, porque geralmente infectam mais de um quarto por vaca, causando uma extensa lesão às células alveolares. Além da perda de produção, vacas portadoras de infecção por *S. aureus* e *S. agalactiae* apresentam CCS bastante elevadas (Fonseca e Santos, 2000; Barret, 2002).

S. aureus é considerado um dos principais microorganismos causadores de mastite subclínica, geralmente do tipo crônica (Cullor, 1993). Estudo realizado por Natzke et al. (1972) aponta redução na produção de leite em vacas infectadas por *S. aureus* de 760 kg/lactação; Omore et al. (1996) encontraram perda de produção de 0,15 kg/dia em vacas infectadas por este patógeno. Fonseca e Santos (2000) citam perda de 8,4 kg/dia por até 60 dias, em vacas que apresentaram casos clínicos de mastite por *S. aureus*.

Insufladores contaminados por *S. aureus* podem veiculá-lo para até seis a oito vacas posteriormente ordenhadas com aquele equipamento (Edmonson, 2001). Diferentemente de *S. agalactiae*, *S. aureus* pode sobreviver no ambiente, como por exemplo, na cama dos animais, o que torna bastante fácil a sua disseminação e bastante difícil o seu controle (Zeconni e Piccinini, 1999). O *S. aureus* se multiplica rapidamente no interior dos ductos lactíferos, atravessa a parede destes ductos em direção aos vasos linfáticos adjacentes, estimulando uma defesa imediata pelos neutrófilos, que passam dos capilares sanguíneos para os ductos. Os danos causados à parede dos ductos, especialmente aos pequenos ductos e ácinos secretores, interrompem a secreção de leite. O desenvolvimento da doença causada por ele é essencialmente a mesma causada por *S. agalactiae*, mas as alterações patológicas são mais marcantes, por este agente se multiplicar em outros locais que não somente o sistema de ductos da glândula mamária. *S. aureus* se estabelece em inúmeros focos e se multiplica, causando extensa lesão tecidual (King, 1969); produz fatores de virulência que interferem na capacidade do hospedeiro em combater a sua infecção e tende a ficar seqüestrado em microabscessos e tecidos fibróticos na glândula mamária, dificultando a penetração e a eficiência dos antimicrobianos (Erskine, 1992; Barret, 2002).

Hutton et al. (1990) relataram que a diferença entre rebanhos com alta CCS (maior que 283.000 céls/ml) e baixa CCS (menor que 283.000 céls/ml) poderia estar relacionada à

porcentagem de vacas infectadas por *S. aureus*. Nos rebanhos com alta CCS, o número de vacas portadoras de *S. aureus* foi oito vezes maior que rebanhos com baixa CCS. Segundo Degraives e Fetrow (1993), num estudo comparando dois rebanhos bastante semelhantes quanto ao manejo geral, o rebanho positivo para este agente apresentou CCS de tanque de refrigeração de 739.000 céls/ml, e o negativo, 66.000 céls/ml.

A resposta de cura ao tratamento de vacas com *S. aureus* durante a lactação apresenta resultados variados e geralmente bastante insatisfatórios. Wilson et al. (1998) encontraram taxas de cura de 49%, com as melhores respostas em vacas de primeira e segunda lactação. Erskine (1992) cita taxas de cura de 25 a 55%. Segundo Barret (2002), as melhores taxas de cura para *S. aureus* têm sido atingidas com a terapia de vaca seca, que possui longa ação, mas mesmo assim, continuam abaixo do desejável.

Apenas 7% das vacas são responsáveis pela ocorrência de 40% de todos os casos clínicos de mastite e cerca de 50% de todo o leite descartado origina-se de apenas 6% das vacas. Considerando que para cada caso clínico existam de 20 a 40 casos subclínicos, torna-se fundamental o descarte de vacas portadoras de mastite crônica (Nickerson, 2002). A retenção no rebanho de vacas portadoras de mastite crônica, especialmente quando infectadas por *S. aureus* é a mais importante fonte de contaminação para vacas sadias; um programa eficiente de controle de mastite deve obrigatoriamente incluir o descarte desses animais, considerando a baixa eficácia dos tratamentos com antibióticos (Erskine, 1992; Barret, 2002).

A maior ou menor porcentagem de quartos infectados está relacionada com a taxa de novas infecções e duração das infecções existentes no rebanho. A duração das infecções pode ser reduzida através da terapia no período seco ou na lactação e descarte, uma vez que apenas 10 a 30% das infecções apresentam cura espontânea, dependendo da

resposta imunológica dos animais (Natzke, 1981).

A segregação de animais portadores de *S. aureus* é uma prática bastante utilizada como alternativa para minimizar a contaminação entre vacas nos rebanhos e apresenta alguns resultados positivos no controle da mastite contagiosa. Wilson et al. (1995) encontraram redução na prevalência de *S. aureus* de 29,5% para 16,3% e redução na CCS de 600.000 para 345.000 céls/ml em rebanhos que adotaram a prática da segregação por 24 meses. Entretanto, a prática cria dificuldades de manejo (lotes de produção, nutrição, fases de lactação) e necessita que as vacas a serem segregadas sejam correta e eficientemente identificadas, o que geralmente inviabiliza sua adoção em grande parte das propriedades (Barret, 2002). Fox e Handcock (1989) estudaram rebanhos que adotaram ou não a segregação e concluíram que tal prática, como única forma de controle da mastite não é eficiente, sendo necessária a associação de outros métodos. Além disso, apenas a segregação dos animais infectados possibilita a permanência dos patógenos contagiosos no rebanho, não excluindo futuras infecções (Fox e Handcock, 1989).

A mastite causada por *S. agalactiae* pode ser do tipo subclínica ou clínica, mas geralmente apresenta-se como subclínica crônica e raramente clínica aguda. Essa bactéria se diferencia das outras causadoras de mastite porque seu habitat quase exclusivo é a glândula mamária e pode sobreviver no ambiente por um período muito curto de tempo. Isto significa que se todas as infecções intramamárias por este organismo forem eliminadas, ele desaparece do ambiente (Murphy, 1956). A taxa de cura espontânea deste agente não é muito alta e é geralmente encontrado em grande número de colônias no leite de glândulas infectadas (Keefe, 1997).

A perda de produção de leite em vacas portadoras de *S. agalactiae* é bastante significativa (King, 1969), já que a inflamação e destruição dos ductos e alvéolos (Cullor, 1993) causados por este microorganismo

provocam hiperplasia epitelial, fibrose e involução das células produtoras de leite (Philpot, 1969). Estudo realizado por Natzke et al. (1972) aponta redução na produção de mais de 775 kg/lactação em vacas infectadas por *S. agalactiae*, o que demonstra a importância econômica da infecção por este microorganismo. McLeod e Wilson (1951), citados por King (1969) apontam uma redução na produção de leite de 24% em vacas infectadas por este agente e redução significativa na produção de gordura do leite.

Geralmente, terapias antibióticas durante a lactação são contestadas pela sua reduzida eficácia quando comparada a terapia no período seco, pelas perdas econômicas geradas pelo descarte do leite com resíduos (Natzke, 1981) e também pela ausência de processos eficientes na identificação das infecções (Philpot, 1969; McDermott et al., 1983). A variação da resposta a estes tratamentos é causada pelas diferentes etiologias (Green, 2000) e susceptibilidades dos microorganismos às drogas, duração das infecções antes da terapia, idade do animal, número de partos, fase da lactação, número de quartos afetados, CCS no momento do tratamento e extensão de tecido mamário que foi comprometido. Contudo, considerando que a maioria das infecções intramamárias ocorre no início da lactação, a eficácia da terapia na lactação poderia superar a eficácia da terapia no período seco caso o diagnóstico das infecções fosse precoce, já que quanto mais cedo à identificação da infecção, maiores são as chances de cura (Natzke, 1981).

Diferente de outros microorganismos, o tratamento antibiótico de infecções subclínicas causadas por *S. agalactiae* tem apresentado bons resultados; este agente tem se mostrado sensível ao tratamento durante a lactação e no período seco, com antimicrobianos (Green, 2000; Erskine et al., 2002). A erradicação deste microorganismo tem sido relacionada com a melhoria tanto da quantidade quanto da qualidade do leite produzido (Murphy, 1956), com redução significativa da CCS do rebanho (Erskine e Eberhart, 1990). Segundo Dodd et al. (1969), o tratamento de mastite subclínica

durante a lactação pode diminuir os danos teciduais e melhorar a produção de leite ainda naquela lactação.

A metodologia de tratamento da mastite subclínica na lactação, com objetivo de reduzir rapidamente a prevalência de *S. agalactiae* dos rebanhos é chamada de Blitz Terapia, que preconiza o tratamento antibiótico durante a lactação de todas as vacas do rebanho infectadas por este microorganismo (Erskine e Eberhart, 1990, Erskine et al., 1993). A mastite subclínica não apresenta perigos imediatos quanto à perda de função da glândula mamária ou risco de morte para os animais que apresentam esta infecção. O tratamento desta patologia na lactação leva em consideração o ganho compensatório em produção de leite e na redução dos valores de CCS, quando aquele animal se apresentar sadio e não se apresentar mais como uma fonte de contaminação para outros animais (Erskine et al., 1993).

Embora práticas de higiene, como pós-dipping e terapias antibióticas no período seco têm sido utilizadas com sucesso no controle de patógenos contagiosos, este é um processo que apresenta resultados em longo prazo. Nos casos em que é necessário reduzir a prevalência destes microorganismos rapidamente, por fatores econômicos e de legislação, como por exemplo, os limites regulatórios de qualidade impostos pelos governos ou indústrias, a Blitz Terapia é indicada por apresentar resultados imediatos (Erskine, 1992).

A diferença na susceptibilidade dos diferentes agentes contagiosos é a justificativa principal para se enfatizar a importância do diagnóstico e identificação do patógeno causador da doença antes de se optar pelo tratamento de mastite subclínica durante a lactação (Tyler et al., 1992). A associação de penicilina e novobiocina tem sido utilizada com sucesso no tratamento de mastite causada por bactérias da espécie streptococci (Weaver et al., 1986; Yagamata et al., 1987; Thornsberry et al., 1997 e Erskine et al., 2002). Segundo Philpot (1984), em rebanhos com alta prevalência de

S. agalactiae, selecionar vacas para serem tratadas com a Blitz Terapia através da cultura microbiológica tem se mostrado de suma importância e economicamente viável. Para monitoramento da prevalência da doença e avaliação da eficácia do tratamento de agentes contagiosos, a CCS individual e a cultura microbiológica têm sido indicadas (Erskine, 1992).

2.3 Utilização da CCS como parâmetro de monitoramento da ocorrência de mastite

As células somáticas são compostas por vários tipos de células, incluindo neutrófilos, macrófagos, linfócitos, eosinófilos e vários tipos de células epiteliais da glândula mamária. Numa glândula mamária saudável, a grande maioria das células somáticas são os macrófagos e os linfócitos, e em pouca quantidade, neutrófilos e células epiteliais. Se, no entanto, a saúde da glândula mamária é alterada por uma infecção microbiana, o número e a predominância dos tipos de células somáticas podem sofrer uma rápida elevação em números e em alteração da proporção de tipos de células. Essa mudança no perfil somático é bastante rápida, em torno de 48 horas, e faz parte de um processo normal do mecanismo de defesa animal. Portanto, o aumento na contagem destas células está diretamente ligado à ocorrência de uma infecção, clínica ou subclínica (Kehrl e Shuster, 1994).

Na década de 50, foram desenvolvidas metodologias e testes para diagnóstico da mastite bovina, inclusive Califórnia Mastitis Test (CMT). A partir da década de 70, outros estudos aprimoraram as técnicas, desenvolvendo procedimentos de contagem eletrônica de células somáticas, mais rápidos e de maior confiança. Nesta mesma época, a CCS de tanque de refrigeração começou a ser utilizada para monitoramento da ocorrência da mastite nos rebanhos (Natzke, 1981).

Contagens acima de 200.000 césl/ml para o leite de vacas têm sido consideradas como indicadores de infecção subclínica nos animais (Bramley et al. 1996; Biggs, 1998; Lukas et

al., 2005). A CCS do leite do tanque de refrigeração também pode estar altamente correlacionada com a prevalência de mastite subclínica nos rebanhos, ou seja, quanto maior a CCS, maior a prevalência. Estudos apontam correlações de 53 a 83% (Emanuelson e Funke, 1991; Lukas et al., 2005).

Segundo Edmonson (2002), à medida que a CCS aumenta, a produção de leite diminui devido à maior incidência de lesões no tecido glandular. Um estudo com 504 rebanhos da região de Michigan (EUA) mostra uma perda média de 1,17 kg de leite/dia/vaca em rebanhos com médias de CCS maiores que 100.000 céls/ml (Bartlett et al., 1990). Barkema et al. (1998) também encontraram redução da produção de leite de 8.589 kg em 305 dias em lactação para 8.072 kg quando a CCS aumenta de 114.000 céls/ml para 310.000 céls/ml. Os mesmos autores encontraram ainda um aumento de 272 kg de leite na lactação para decréscimo de 100.000 céls/ml na CCS. Reksen et al. (2007) também encontraram correlação negativa entre CCS e produção de leite.

Coldebella (2003), em um recente estudo realizado no Brasil, relata perdas iniciais de produção de leite à partir de 17.000 céls/ml. Transformando-se este valor de 17.000 céls/ml para log na base 10, para cada aumento unitário na escala deste logaritmo estimam-se perdas de 238 e 868 g/dia para vacas primíparas e multíparas, respectivamente.

2.4 Escore de sujidade de úbere

A avaliação de escores de sujidade de úbere é indicada como parâmetro para monitoramento das condições externas e ambientais, que podem ser ligadas à ocorrência de mastite (Reneau et al., 2003). A condição de limpeza do úbere está diretamente relacionada à quantidade e aos tipos de bactérias presentes na superfície da glândula mamária e essa sujeira encontrada nos tetos e úbere é considerada a principal fonte de microorganismos ambientais para a glândula mamária e para o leite (Galton et al., 1982). Neave et al. (1966) descreveram a correlação

positiva entre a ocorrência de infecções intramamárias e o número de bactérias presentes na extremidade do teto. Barkema et al. (1998) relataram que rebanhos com CCS do tanque de refrigeração mais alta (maior que 250.000 céls/ml) possuem significativamente mais vacas secas com 30% ou mais do úbere coberto de fezes do que rebanhos com CCS menor que 150.000 céls/ml.

Reneau et al. (2003) citam que embora seja esperado que vacas com o úbere sujo tenham índice de mastite, principalmente por patógenos ambientais, maior do que vacas com o úbere limpo, esta associação ainda não foi bem documentada.

Sistemas de escore de sujidade de úbere têm sido utilizados para avaliação da higiene dos tetos e úberes das vacas e do ambiente de permanência de uma maneira geral. Um sistema conhecido utiliza uma classificação de escore que vai de 1 (totalmente limpo) a 4 (totalmente sujo) (Ward et al., 2002; Schreiner e Ruegg, 2003; Reneau et al., 2003).

Segundo Schreiner e Ruegg (2003), vacas com escore 2 e 3 de sujidade de úbere têm 1,5 vezes mais chance de apresentarem crescimento dos principais patógenos causadores de mastite em culturas microbiológicas.

2.5 Escore de esfíncter de tetos

O canal e o esfíncter do teto são importantes barreiras contra a entrada de bactérias na glândula mamária (Gleeson et al., 2004). A extremidade do teto, quando íntegra, é um importante fator de resistência à mastite bovina. Alterações na integridade do tecido e do canal do teto podem favorecer a penetração de bactérias e o desenvolvimento de infecções intramamárias (Hamman, 1987).

As lesões de esfíncter de teto comprometem a oclusão contra a entrada de bactérias. A hiperqueratose, que é a hiperplasia do extrato córneo (Neijenhuis, 2001b) é uma das formas de lesões de tetos, assim como edema, congestão e hemorragias. Segundo Hamman

(1987) e Shearn e Hillerton (1996), a hiperqueratose dos tetos pode aumentar com o aumento da produção de leite e conseqüente aumento no tempo de ordenha. As causas podem ser pulsação inadequada de ordenhadeiras, remoção das teteiras sem cessão do vácuo e sobreordenha (Barret, 2002). Peterson (1964), citado por Hamman (1987), demonstrou que a sobreordenha por cinco minutos, durante quatro ordenhas, causa danos teciduais aos tetos, com exame *post-mortem* indicando hemorragia no epitélio do teto, hemorragia e necrose na derme das papilas do canal do teto e perda de queratina. Gleeson et al. (2003) encontraram significativo aumento na hiperqueratose quando se comparou a retirada do conjunto de ordenha de um fluxo de 0,8 litros/min para 0,2 litros/min, comprovando o efeito do tempo de ordenha na saúde dos tetos. Biópsias de tetos hiperqueratóticos apontam infecção por bactérias gram positivas em 50% deles (Timms et al., 1997, citado por Gleeson et al., 2004). Nickerson (1994) encontrou alta frequência de bactérias estafilocócicas e *Streptococcus dysgalactiae* nas lesões na extremidade dos tetos. Falkenberg et al. (2004) encontraram correlação positiva entre escores de esfíncter de tetos e infecção intramamária por *S. agalactiae*.

O'Shea (1987) propôs cinco mecanismos pelos quais o equipamento de ordenha pode ter efeitos diretos e indiretos na saúde da glândula mamária: 1) contaminação da pele dos tetos, 2) mudança na condição dos tetos, 3) penetração de bactérias pelo canal dos tetos, 4) infecção entre os quartos por bactérias, 5) variação do esvaziamento do úbere. Hamman et al. (1994) sugerem que os equipamentos de ordenha que causam congestão nas extremidades dos tetos acabam por provocar micro lesões no epitélio do teto, que se torna predisposto à colonização bacteriana.

Alterações na integridade da extremidade dos tetos resultam, principalmente, de forças mecânicas advindas de colapsos do vácuo e a magnitude destas forças depende do nível do vácuo, da pulsação, do tipo de equipamento de ordenha e da forma física do teto (Neijenhuis

et al., 2000). Na medida em que aumenta o nível de vácuo além do indicado para cada tipo de equipamento, aumentam também as lesões de esfíncter de teto (Langlois et al., 1981). Numa ordenha cujo nível de vácuo foi elevado para 70 kpa, nível acima do recomendado para o equipamento em questão, 21% dos tetos ordenhados apresentaram alguma alteração de forma e cor após a ordenha (Hamman e Mein, 1988).

Segundo Jackson (1970) e Seykora e McDaniel (1985), as lesões de teto, em especial nas extremidades, podem contribuir para o aumento da incidência de infecções intramamárias. Essas lesões podem tornar-se infectadas e agirem como reservatórios de agentes patogênicos. Episódios de mastite clínica ocorreram com frequência dez vezes maior em quartos com lesão na extremidade do teto do que em quartos preservados. A patogenia das infecções intramamárias indica que o começo desta enfermidade se dá com a presença do patógeno na superfície do teto, o que faz com que qualquer fator que contribua com a presença e multiplicação deste microorganismo aumente a probabilidade de ocorrência de mastite (Philpot, 1979).

Alguns experimentos (Farnsworth, 1995; Sieber e Farnsworth, 1981; e Jackson, 1970) encontraram alta prevalência de mastite subclínica em tetos com graves lesões em suas extremidades. Entretanto, Bakken (1981), citado por Seykora e McDaniel (1985), Shearn e Hillerton (1996) e Neijenhuis et al., (2003) não encontraram relação entre CCS e lesões de extremidades de tetos.

Para avaliar as condições de saúde da extremidade dos tetos, pode-se utilizar um sistema de escore de esfíncter de tetos. Mein et al., (2001) propõe classificação de 0 (nenhuma lesão de esfíncter) a 3 (anel protuberante na extremidade do teto). Segundo os autores, este sistema possibilita que veterinários e outros profissionais da área avaliem através de um método simples e confiável, as condições de saúde da extremidade do teto, cuja integridade é um

fator fundamental para o bom êxito de programas de controle de mastite.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Propriedade

O estudo foi conduzido de dezembro de 2006 a abril de 2007, em uma propriedade leiteira no município de João Monlevade, no estado de Minas Gerais. O rebanho comercial era constituído de 114 vacas mestiças (Holandês preto e branco [HPB] x Gir leiteiro) em lactação, com produção média de 18 kg de leite/dia. Os animais eram ordenhados duas vezes ao dia, em equipamento de ordenha mecânica com 12 conjuntos (2X6=12). O manejo da ordenha incluiu teste da caneca telada para detecção de mastite clínica, retirando os três primeiros jatos de leite; pré-dipping em frasco sem retorno, com solução de hipoclorito de sódio a 1%; secagem dos tetos com papel-toalha descartável, utilizando um papel por teto; pós-dipping em frasco sem retorno, com solução de iodo a 1%. A limpeza do equipamento da ordenha era realizada em quatro etapas: pré-enxágue com água a 40°C; circulação de detergente alcalino clorado em água a 70°C, por dez minutos, com controle de temperatura da água, que ao final desta etapa sai acima de 40 °C; enxágue com detergente ácido em água fria; sanitização com solução clorada em água fria, por cinco minutos, 30 minutos antes de cada ordenha. A revisão do equipamento de ordenha ocorria de quatro em quatro meses. O tratamento dos casos clínicos de mastite era realizado imediatamente após o diagnóstico, com registro da ocorrência em fichas próprias e segregação destes animais, que eram ordenhados ao final. O protocolo previa duas aplicações intramamárias ao dia, por no mínimo, três dias consecutivos, com antibiótico à base de gentamicina 150 mg, e após o desaparecimento dos sintomas clínicos, mais duas aplicações intramamárias. A terapia de vaca seca era realizada em todos os animais no dia da secagem, 60 dias antes do parto, com antibiótico de longa ação para vacas secas, à base de gentamicina. A limpeza do local de permanência dos animais, tipo *free stall*, era realizada duas vezes ao dia, com retirada do

esterco utilizando trator. Toda esta área era coberta, com proteção dos animais contra sol e chuva.

A dieta das vacas em lactação durante todo o ano se constituía de silagem de milho como volumoso e preparado de milho, farelo de soja, polpa cítrica, caroço de algodão e pré mix mineral e vitamínico como concentrado. O sal comum era fornecido à vontade no cocho, assim como água limpa, disponível em bebedouros distribuídos pelos galpões de manejo. Os animais permaneciam durante o dia em galpões onde se localizavam os cochos de alimentação e à noite eram mantidos em pastos, que não eram fonte principal de alimentação e sim local de descanso.

3.2 Animais

O grupo experimental era constituído de 114 vacas em lactação. As informações de ordem de parição e fase de lactação de todos os animais do rebanho foram anotadas no início do período experimental. Os animais foram classificados quanto à fase de lactação nos seguintes grupos: fase 1, animais com até 90 dias de lactação; fase 2, animais entre 91 e 180 dias de lactação; fase 3, animais acima de 180 dias de lactação.

3.3 Identificação dos microorganismos causadores de infecção intramamária

Considerando dia zero o dia do tratamento, foram coletadas amostras de leite individuais compostas (dos quatro quartos mamários) de todas as vacas em lactação (n=114), para cultivo microbiológico nos dias -21, -14 e -7. As amostras de leite foram obtidas imediatamente antes da ordenha, após desprezar os três primeiros jatos de leite, desinfetar os tetos com solução de cloro, secar cada teto com dois papéis-toalha descartáveis e realizar cuidadosa antisepsia da extremidade dos tetos com algodão embebido em álcool a 70%. Quatro jatos de leite de cada teto foram coletados diretamente em frasco estéril, previamente identificado com o número do animal. O material amostrado foi imediatamente congelado. Após o

congelamento, os frascos foram acondicionados em recipiente isotérmico com gelo e encaminhados ao laboratório para exame microbiológico.

A análise microbiológica foi realizada retirando uma alíquota equivalente de leite de cada um dos três frascos pertencentes a cada animal, para semeadura em placa de ágar-sangue, segundo metodologia da Embrapa (Brito e Brito, 1999). Após inoculação das amostras de leite, as placas de ágar-sangue são examinadas após 18 a 24 horas de incubação, mas o diagnóstico final é realizado após 48 horas de incubação. Após isolamento inicial, é realizado esfregaço corado pelo método de Gram para verificação da morfologia e coloração do microorganismo. Posteriormente, os cocos gram-positivos são diferenciados pelo teste da catalase nos gêneros *Streptococcus* e *Staphylococcus*. Para as bactérias do gênero *Staphylococcus*, é empregado o teste da coagulase para diferenciá-las em coagulase-positivo (*S. aureus*, *S. intermedius* e *S. hyicus*) e coagulase-negativo (*S. chromogenes*, *S. simulans*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*). Teste confirmatório de aglutinação diferencia *S. aureus* dos outros coagulase-positivo. Para diferenciação de *S. agalactiae*, são realizados os testes de reação de CAMP (positiva) e hidrólise de esculina (negativa).

3.4 Blitz terapia contra *S. agalactiae* e descarte de animais portadores de *S. aureus*

Dos 40 animais identificados como portadores de *S. agalactiae* no exame microbiológico, 33 receberam três aplicações intramamárias consecutivas (três ordenhas consecutivas), com intervalo de doze horas, de 10 ml da associação de penicilina e novobiocina (Tetra-Delta®/anexo 1), nos quatro quartos mamários, respeitando-se rigorosa antisepsia prévia dos tetos com algodão embebido em álcool a 70%. O leite produzido por esses animais em tratamento foi descartado de acordo com o período de carência indicado pelo laboratório.

Foi realizada secagem antecipada nos outros sete animais identificados como portadores de *S. agalactiae* no exame microbiológico, com antibiótico de longa ação à base de cloxacilina benzatina 600 mg (Orbenin Extra Dry Cow®-Pfizer) por se apresentarem em fase adiantada da lactação, muito próximo da data programada para secagem.

Os animais tratados foram segregados após o tratamento, permanecendo em piquetes próximos da sala de ordenha, até o resultado microbiológico final (21 dias pós-tratamento), a fim de evitar a contaminação das vacas consideradas sadias no exame microbiológico. Durante a ordenha estes animais também foram segregados, respeitando-se a seguinte linha de ordenha: sadias (sem crescimento bacteriano no exame); recém-paridas (ainda sem resultado microbiológico); positivas para microorganismos ambientais; positivas/tratadas para *S. agalactiae*.

Todos os animais identificados no exame microbiológico como portadores de *S. aureus* (n=2) foram imediatamente descartados.

3.5 Avaliação da eficácia da terapia antimicrobiana contra *S. agalactiae*

Aos 14 e 21 dias após o tratamento foi realizado novo cultivo microbiológico de leite dos animais tratados, para avaliação da taxa de cura microbiológica. Foram consideradas curadas as vacas que não apresentaram crescimento de *S. agalactiae* na primeira e na segunda coleta.

3.6 Contagem de células somáticas

Foi realizada análise de CCS individual composta de todas as vacas em lactação sete dias antes (-7), 14 e 21 dias após a terapia antimicrobiana. Os resultados foram utilizados para avaliação do impacto da Blitz Terapia na CCS dos animais.

As amostras de leite individuais compostas para análise de CCS foram coletadas nas ordenhas da manhã, em medidores de leite e acondicionadas em frascos plásticos; cada

frasco continha dois comprimidos do conservante bronopol (2-bromo-2-nitro-1,3-propanodiol), permitindo a conservação do leite à temperatura ambiente. Após a coleta as amostras foram homogeneizadas por inversão até a completa dissolução dos comprimidos. As análises de CCS foram realizadas pelo método eletrônico em equipamento Somacount 300 (Bentley Instruments®) no Laboratório de Qualidade do Leite da Escola de Veterinária da UFMG.

Foi coletada amostra do tanque de refrigeração para análise de CCS, 21 dias após a terapia antimicrobiana. Essa amostra foi coletada segundo procedimento de Brito (2001): agitação do leite do tanque por cinco minutos (para correta homogeneização) e coleta do leite utilizando um coletador apropriado (tipo concha), despejando o leite no frasco, até $\frac{3}{4}$ da capacidade do frasco. Da mesma maneira que para coleta individual, cada frasco continha dois comprimidos do conservante bronopol. Após a coleta, as amostras foram homogeneizadas por inversão até a completa dissolução dos comprimidos e enviadas ao laboratório para análise de CCS através do método eletrônico, em equipamento Somacount 300 (Bentley Instruments®).

Foram utilizados dados da CCS individual dos animais e do tanque de refrigeração de maio de 2006 a janeiro de 2007, realizados e registrados pela propriedade. Os dados de CCS individual foram utilizados para avaliar a correlação com a produção de leite dos animais neste período. Os dados de CCS do tanque de refrigeração foram utilizados para posterior comparação com a CCS do mesmo após a Blitz Terapia e descarte de vacas portadoras de *S. aureus*.

3.7 Produção de leite do rebanho

A produção de leite das vacas que receberam a Blitz Terapia foi acompanhada nos três meses anteriores e três meses posteriores ao tratamento. A produção de leite foi medida através dos medidores de leite conectados ao equipamento de ordenha, na ordenha da manhã e da tarde, totalizando a produção

diária dos animais. Para avaliar a correlação entre CCS e produção de leite individual dos animais naquele rebanho foram utilizados dados da produção de leite das vacas de maio de 2006 a janeiro de 2007 registrados pela propriedade, conforme mencionado anteriormente.

3.8 Coleta de dados de escore de sujidade de úbere

A avaliação de escore de sujidade de úbere foi realizada pelo responsável pelo experimento em todas as vacas em lactação, 60 dias após o tratamento das vacas positivas para *S. agalactiae*, em todas as vacas em lactação naquele período (n=138).

Para a avaliação de escore de sujidade, o parâmetro utilizado seguiu modelo proposto por Schreiner e Ruegg (2003): 1 (totalmente limpo ou com alguma mínima sujidade), 2 (levemente sujo), 3 (a maior parte suja), 4 (totalmente coberto com sujidade). O avaliador utilizou um modelo impresso como padrão de classificação (anexo 2). O escore de sujidade de úbere foi correlacionado com a CCS da amostra colhida no dia em que as avaliações foram realizadas.

3.9 Coleta de dados de lesões de esfíncter e escore de esfíncter de teto

A avaliação de escore de esfíncter de teto foi realizada em todas as vacas em lactação (n=138), 60 dias após o tratamento das vacas positivas para *S. agalactiae*, em todas as vacas em lactação naquele período (n=138).

O padrão utilizado para escore de esfíncter de teto seguiu modelo proposto por Mein et al. (2001): escore 0 (nenhum anel ou lesão na extremidade do teto), escore 1 (anel pequeno na extremidade do teto), escore 2 (anel moderado na extremidade do teto), escore 3 (anel protuberante na extremidade do teto). O avaliador utilizou um modelo impresso como padrão de classificação (anexo 3).

A partir do escore de esfíncter de tetos, foi calculada a frequência dessas lesões por tetos, que foram agrupadas por categorias de lesões de esfíncter, com base no número de tetos afetados: grupo 1 (sem nenhuma lesão de esfíncter nos tetos); grupo 2 (lesão em um teto); grupo 3 (lesão em dois tetos); grupo 4 (lesão em três tetos); grupo 5 (lesão nos quatro tetos). Essas categorias foram correlacionadas com a CCS da amostra colhida no dia em que as avaliações foram realizadas.

3.10 Análises estatísticas

Para o perfil microbiológico do rebanho, CCS mensal do tanque de refrigeração e taxa de cura microbiológica de acordo com o cultivo microbiológico aos 14 e 21 dias após terapia antimicrobiana contra *S. agalactiae*, foi realizada análise descritiva.

O teste SNK foi utilizado para analisar os dados de CCS dos animais aos 14 e 21 dias após terapia antimicrobiana contra *S. agalactiae*. A CCS individual dos animais foi relacionada com a produção de leite, utilizando-se correlação de Pearson.

A porcentagem com que cada vaca contribui para a CCS do tanque de refrigeração foi analisada utilizando-se a fórmula:

% CCS de contribuição na CCS tanque =

$$\frac{[(\text{CCS individual} \times \text{produção de leite individual} \times 1000)]}{$$

$$(\sum \text{CCS individual} \times \text{produção de leite individual} \times 1000) \text{ de todas as vacas}] \times 100$$

Para comparar essas porcentagens de contribuição para a CCS do tanque de refrigeração antes e depois da terapia antimicrobiana contra *S. agalactiae*, foi realizado o teste de T pareado para comparação de médias.

Para os dados de produção de leite e CCS de tanque de refrigeração antes e depois do tratamento, foi utilizado teste T de Student.

Com o objetivo de avaliar a correlação entre os dados de escore de sujidade de úbere e frequência de lesões de esfíncter de tetos com a CCS individual composta dos animais, utilizou-se a análise de correlação de Spearman.

Para todas as análises foi utilizado o programa estatístico SAEG, versão 9.0 (UFV, 2000), com as comparações de médias ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Todos os dados de CCS foram transformados para log CCS na base 10, por não apresentarem distribuição normal.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Perfil microbiológico e CCS

Os resultados da cultura microbiológica das vacas em lactação no rebanho estudado demonstraram as seguintes prevalências: *S. agalactiae* foi o microorganismo que apresentou maior prevalência, com 35,1% (40/114), seguido de *Streptococcus* sp, com 15,8% (18/114) e *Staphylococcus* coagulase-negativo, com 8,7% (10/114). O microorganismo *S. aureus* apresentou reduzida prevalência, de apenas 1,8% (2/114). Estes resultados são apresentados na tabela 1.

Tabela 1: Resultado da cultura microbiológica do leite de vacas em lactação e porcentagem de prevalência de cada microorganismo isolado.

Cultura microbiológica	Número animais	Porcentagem (%)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	40	35,1
Sem crescimento bacteriano	25	21,9
<i>Streptococcus</i> sp	18	15,8
<i>Staphylococcus</i> sp coagulase negativa	10	8,8
Contaminação	8	7,0

(mais de duas bactérias)		
Células leveduriformes	6	5,3
<i>Escherichia coli</i>	4	3,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	1,8
<i>Bacillus</i> sp	1	0,9
TOTAL	114	100

No Brasil, Brito et al. (1998) avaliando a ocorrência de patógenos ambientais, encontraram as seguintes porcentagens de animais infectados: para *S. aureus*, 1,8%, 19,2%, 17,0% e 8,4%, em quatro rebanhos diferentes; para *S. agalactiae*, 1,8%, 10,6% e 8,4% em três diferentes rebanhos. Experimento realizado em 48 rebanhos de Minas Gerais, utilizando cultura microbiológica de quartos individuais, detectou 39% de ausência de crescimento de microorganismos, 19,2% de *S. aureus*, 12,4% de *Staphylococcus* sp. coagulase-negativos, 6,9% de *S. agalactiae*, 6,1% de *Streptococcus* sp. e 55,2% de *Corynebacterium* sp. (Brito et al., 1999). Reis et al. (2003), num estudo em dois rebanhos na região metropolitana de Belo Horizonte, em Minas Gerais (Brasil), encontraram prevalência de 23,1% de *S. aureus*, 20% de *Staphylococcus* coagulase-negativo e 11,6% de *E.coli*.

Um levantamento realizado no Canadá apontou prevalência de 12% para *S. aureus* e 6,6% para *S. agalactiae* (Brooks et al., 1982). Na Finlândia, um estudo realizado em 2001 revelou prevalência de 49,6% de *Staphylococcus* coagulase-negativo, 10,2% de *S. aureus* e 0,1% de *S. agalactiae* (Pitkala et al., 2004). Tenhagen et al. (2006), estudando a importância de agentes contagiosos na patogenia da mastite em rebanhos alemães, encontraram prevalência de 5,7% de *S. aureus* e de 9,1% *Staphylococcus* coagulase-negativo, mas não encontraram *S. agalactiae*. Um estudo de diagnóstico microbiológico na Itália encontrou nas amostras individuais de leite de 5.825 vacas, 47,4% de amostras sem crescimento; 22,6% de *Staphylococcus* coagulase-negativo; 20,6% de *S. aureus*, 11,1% de *Streptococcus* spp.; 2,9% de

coliformes; e 2,3% de *S. agalactiae* (Ferguson et al., 2007).

Agentes contagiosos como *S. aureus* ou *S. agalactiae* se mantêm presentes com elevada prevalência em vários estudos brasileiros (Brito et al., 1998; Brito et al., 1999; Reis et al., 2003), o que também ocorre para *S. aureus* em outros países (Pitkala et al., 2004; Tenhagen et al., 2006; Ferguson et al., 2007). Pode-se considerar que o fato de países europeus e americanos já há bastante tempo conduzirem programas de controle de patógenos contagiosos (Brooks et al., 1982; DeGraves e Fetrow, 1993; Booth, 1996; Barkema et al., 1998; Barberio et al., 1999) faz com que a prevalência de *S. agalactiae* seja mais reduzida nestes países do que no Brasil, onde a prevalência deste patógeno ainda é alta, como no presente estudo, que aponta prevalência de 35,1%. O fato de *S. agalactiae* ser mais facilmente combatido, o que está diretamente ligado a sua localização exclusivamente intramamária e sua susceptibilidade à ação de antimicrobianos utilizados na lactação e no período seco, justifica os bons resultados destes programas com redução na prevalência e, em alguns casos, erradicação do patógeno dos rebanhos através da utilização de Blitz Terapia. Ao contrário, *S. aureus* ainda apresenta importante prevalência em muitos países apesar dos programas de controle, o que demonstra a dificuldade de controle deste patógeno. Este, que é altamente contagioso, mantém-se presente em ambiente extramamário e demonstra pouca sensibilidade aos antimicrobianos por se manter em microabscessos no interior da glândula mamária (Zeconni e Piccinini, 1999; Edmonson, 2001; Barret, 2002).

A CCS do tanque de refrigeração dos meses anteriores à Blitz Terapia, de maio de 2006 a janeiro de 2007, são apresentadas na tabela 2.

Tabela 2: CCS do tanque de refrigeração nos meses anteriores à Blitz Terapia.

Mês	CCS x 1000 tanque de refrigeração
Maio/06	1345
Junho/06	1040
Julho/06	1350
Agosto/06	1300
Setembro/06	850
Outubro/06	800
Novembro/06	920
Dezembro/06	1093
Janeiro/07	829

A alta CCS encontrada nos meses anteriores à Blitz Terapia, apresentando valores sempre acima de 800.000 céls/ml, pode ser justificada pela alta prevalência de *S. agalactiae* encontrada neste rebanho (35,1%). Segundo Keefe et al. (1997), rebanhos infectados por *S. agalactiae* possuem média de CCS de tanque de refrigeração maior que rebanhos não infectados. Da mesma maneira, Wilson et al. (1997) avaliaram a prevalência de microorganismos causadores de mastite em rebanhos da Pensilvânia (EUA), totalizando 108.312 vacas e a maior média de CCS foi encontrada para vacas com *S. agalactiae* e *Streptococcus* sp. Erskine e Eberhart (1990) encontraram média de 918.000 céls/ml na CCS do tanque de refrigeração em rebanhos positivos para *S. agalactiae*, resultado bastante semelhante ao do presente estudo.

Brito et al. (1998), em um estudo realizado no Brasil com 33 rebanhos, de nove rebanhos com CCS acima de 500.000 céls/ml, isolaram *S. aureus* e *S. agalactiae* em cinco, apenas *S. aureus* em três, e apenas *S. agalactiae* em um. O fato de todos os rebanhos com CCS acima de 500.000 céls/ml apresentarem crescimento de *S. aureus* e/ou *S. agalactiae* demonstra a importância desses agentes contagiosos na ocorrência de mastite subclínica com aumento da CCS, individual e do tanque de refrigeração, devido às extensas lesões do epitélio secretor e conseqüente resposta celular. Da mesma maneira se apresentam os resultados do presente estudo: CCS de tanque de refrigeração acima de 800.000 céls/ml por oito meses consecutivos e alta prevalência de

S. agalactiae. Diante destes resultados, entende-se que a busca pela redução da CCS deve estar diretamente relacionada ao controle dos patógenos contagiosos causadores de mastite.

Schreiner e Ruegg (2003) encontraram correlação significativa entre elevada CCS e o isolamento de patógenos contagiosos. A CCS aumenta à medida que a prevalência dos principais patógenos contagiosos causadores de mastite aumenta. Omore et al. (1996) também encontraram correlação entre alta CCS e a presença de *S. aureus* e *Streptococcus* sp. na cultura microbiológica. De maneira contrária, rebanhos com média de CCS menor que 150.000 céls/ml apresentam 0,1% de prevalência de *S. agalactiae* nos quartos mamários (Keefe, 1997).

Na tabela 3, são apresentados os valores médios de CCS das vacas, para cada tipo de microorganismo isolado na cultura microbiológica.

Tabela 3: Valores médios de CCS das vacas para cada tipo de microorganismo isolado na cultura microbiológica.

Microorganismo	CCS x 1000
Sem crescimento bacteriano	143
<i>Staphylococcus coagulase- negativo</i>	279
<i>Escherichia coli</i>	284
<i>Streptococcus</i> sp	325
Células leveduriformes	400
<i>Bacillus</i> sp	431
<i>Streptococcus agalactiae</i>	451
<i>Staphylococcus aureus</i>	1144

Observou-se elevada CCS em amostras positivas para *S. aureus* e *S. agalactiae*. A maior média de CCS, de 1.144.000 céls/ml, foi encontrada em vacas positivas para *S. aureus* na cultura microbiológica e de 451.000 céls/ml para vacas positivas para *S. agalactiae*. A menor média de CCS encontrada, de 143.000 céls/ml, foi para as vacas que não apresentaram crescimento microbiológico no exame, valor que segundo vários autores (Bramley et al. 1996; Biggs, 1998; Barret, 2002; Lukas et al., 2005) pode indicar ausência de infecção subclínica.

Ward e Schultz (1972) encontraram média de CCS de 314.000 céls/ml para animais que não apresentaram crescimento microbiano; 900.000 céls/ml para animais positivos para *S. agalactiae* e 1.498.000 céls/ml para animais positivos para *S. aureus*. Segundo Erskine (1992) quartos mamários infectados por *S. aureus* possuem média de CCS de 1.500.000 a 1.820.000 céls/ml, valores próximos ao encontrado neste estudo. Para *S. agalactiae*, Erskine (1992) encontrou média de CCS de 900.000 a 2.238.000 céls/ml. Segundo Poutrel e Rainard (1982), aproximadamente 95% das vacas infectadas por *S. agalactiae* em um rebanho têm CCS maior que 200.000 céls/ml. Segundo Erskine (1992), existe uma elevada correlação entre CCS do rebanho e a presença de patógenos contagiosos e pode-se esperar, em rebanhos com CCS acima de 700.000 céls/ml, como é o caso do rebanho estudado, ao menos 50% das vacas infectadas. No rebanho avaliado, somando-se *S. aureus* e *S. agalactiae*, a prevalência chega a 36,9%. Se forem consideradas as vacas portadoras de *Staphylococcus* coagulase-negativo, que tem característica de agente contagiosos e ambientais, esta prevalência chega a 46,7%. A alta prevalência encontrada neste estudo de microrganismos contagiosos causadores de mastite, cuja CCS também se apresenta elevada, reflete no enorme impacto destes microrganismos na CCS do tanque de refrigeração.

4.2 Produção de leite e CCS

No presente estudo, quando se correlacionou os dados de oito meses consecutivos de CCS das vacas com suas respectivas produções de leite (maio/06 a janeiro/07), encontrou-se uma correlação negativa ($p < 0,001$) de -33%, o que significa dizer que a medida em que aumenta a CCS, a produção de leite diminui.

Degraves e Fetrow (1993) relataram que para cada aumento em 25.000 céls/ml, há uma redução de 6,1% na produção de leite. Omoro et al. (1996) encontraram correlação negativa entre CCS e produção de leite, sendo que para cada aumento em 25.000 céls/ml, houve uma redução na produção de 0,28 kg, sendo que este experimento foi conduzido em rebanhos com produção mediana de leite (média de 1000 a 2000 kg/305 dias de lactação) e assim, segundo os autores, pode-se esperar uma perda de produção ainda maior em rebanhos de alta produção. Magalhães et al. (2006) relataram perdas em produção de 1,02 e 21.15% em vacas com CCS de 171.000 e 2.488.000 céls/ml, respectivamente.

Bactérias contagiosas são consideradas importantes agentes relacionados à redução na produção de leite, por causarem extenso prejuízo ao epitélio secretor e morte de células produtoras de leite (Edmonson, 2002). As características destes agentes de causarem, geralmente, infecções subclínicas e crônicas (Cullor, 1993) aumenta ainda mais o impacto produtivo, já que a perda de produção se arrasta por todo o período crônico da infecção, com lesões permanentes do epitélio secretor, comprometendo futuras lactações e reduzindo o potencial produtivo dos animais. O fato de existir correlação negativa entre produção de leite e CCS demonstra a importância de se controlar os agentes que comprovadamente encontram-se relacionados com o aumento da CCS do rebanho, como *S. aureus* e *S. agalactiae*.

4.3 Eficácia da Blitz Terapia contra *S. agalactiae*

Todos os animais que foram tratados com a Blitz Terapia (n=33) apresentaram ausência de crescimento de *S. agalactiae* no exame

microbiológico realizado aos 14 e 21 dias após o tratamento.

Blackburn (1956), testando a eficiência da Blitz Terapia contra *S. agalactiae*, encontrou taxa de cura de 80%, mas não encontrou diferença entre os grupos experimentais, que receberam aplicações intramamárias de 100.000 UI de penicilina, combinação de penicilina e dihidroestreptomicina ou somente dihidroestreptomicina. Smith e Ward (1975) relataram redução de 21% para 4,7% de infecção em quartos positivos para *S. agalactiae*, 20 dias após tratamento utilizando infusão intramamária de penicilina. Goodger et al. (1988) apresentaram resultado de cura microbiológica em 97 vacas de 99 vacas tratadas com cefapirina, após três semanas. Um programa de redução na prevalência de *S. agalactiae*, com duração de cinco anos, em propriedades leiteiras em Israel alcançou redução na prevalência de 28% no início do programa para menos de 2% dos rebanhos, após Blitz Terapia em todas as vacas diagnosticadas com infecções intramamárias por este microorganismo (Bar-Moshe et al., 1987, citado por Keefe, 1997).

Wilson et al. (1999), numa compilação de dados de 9000 tratamentos de casos de mastite subclínica na lactação, com sete bases antibióticas diferentes, demonstrou taxa de cura média para *S. agalactiae* de 77%. A diferença entre estes resultados e o do presente estudo pode estar nos fatores já conhecidos como variáveis para obtenção de máxima cura microbiológica, como diferentes etiologias e susceptibilidades dos microorganismos às drogas, duração das infecções antes da terapia, idade do animal, número de partos, fase da lactação, número de quartos afetados, CCS no momento do tratamento e extensão de tecido mamário que foi comprometido.

Um estudo em 1986 avaliou a eficácia da Blitz Terapia em 92 vacas, utilizando 100.000 UI de penicilina associada a 150 mg de novobiocina, com duas aplicações intervaladas de 24 horas. A taxa de cura microbiológica encontrada foi de 94%, 21 dias após o tratamento (Weaver et al., 1986). Yagamata et al. (1987), em experimento com 689 vacas, testando Blitz

Terapia utilizando uma aplicação de 100.000 UI de penicilina associada a 150 mg de novobiocina, encontraram taxa de cura para *S. agalactiae* três semanas após o tratamento de 98%. Um estudo americano em 12 rebanhos, avaliando a eficiência da Blitz Terapia associada a outras práticas de controle, utilizando duas aplicações intramamárias de associação de penicilina e novobiocina em todos os quartos das vacas infectadas, indicou uma prevalência média de *S. agalactiae* de 41,6% de vacas e 23% de quartos, anteriormente ao tratamento. Estes índices foram reduzidos para 9,3% e 3,4%, respectivamente, após 30 dias de terapia e de 4,2% e 1,6%, respectivamente, após um ano. Ao final de um ano, *S. agalactiae* não foi isolado em cinco dos 12 rebanhos. A média de eficácia da droga antimicrobiana administrada na eliminação do microorganismo foi de 92,6% para quartos e 88,3% para vacas, medidos 30 dias pós-terapia (Erskine e Eberhart, 1990). Owens et al. (1997) realizaram experimento no qual, durante a lactação, quartos positivos para *S. aureus*, *S. agalactiae*, *S. uberis*, *S. dysgalactiae* e *Streptococcus* spp. foram tratados com duas aplicações de antibiótico intramamário a base de penicilina e novobiocina, com intervalo de 24 horas. A taxa de cura para *S. agalactiae* foi de 90%.

O fato de o presente estudo ter atingido 100% de cura microbiológica pode estar relacionado ao número maior de aplicações intramamárias utilizadas, três, quando comparada a outros estudos, que utilizaram uma ou duas aplicações. Segundo Viana (2000), o resultado terapêutico da administração de antibióticos é variável e depende principalmente da obtenção de uma concentração adequada da droga no local da infecção, além de defesas íntegras do hospedeiro e sensibilidade do microorganismo. Três aplicações intramamárias consecutivas, ao invés de uma ou duas, podem ter resultado no aumento da concentração e no tempo de ação da droga no combate àquele microorganismo, aumentando assim as chances de cura microbiológica. O sucesso da Blitz Terapia depende, dentre outros fatores, da escolha do antibiótico. O resultado de

100% de cura microbiológica obtido no presente estudo confirma a alta sensibilidade de *S. agalactiae* a associação de penicilina e novobiocina.

O uso da CCS e não da cultura microbiológica na identificação de *S. agalactiae* para posterior Blitz Terapia foi considerado por Erskine e Eberhart (1990), que avaliaram três tipos de procedimentos de diagnóstico de mastite seguido de blitz terapia contra *S. agalactiae*: cultura microbiológica de todos os animais e tratamento apenas daqueles positivos para *S. agalactiae*; tratamento de todos os animais do rebanho com CCS acima de 400.000 céls/ml; tratamento de todos os animais do rebanho independente da CCS. Os resultados apontaram uma melhor relação custo-benefício para o primeiro procedimento, devido à maior eficácia na identificação da infecção e menores gastos com antibióticos e descarte de leite de vacas sadias que foram tratadas sem necessidade. No presente estudo, optou-se pelo procedimento utilizado no primeiro grupo do estudo de Erskine e Eberhart (1990), que garante maior segurança na identificação correta dos animais infectados por *S. agalactiae*, evitando assim a utilização indiscriminada de antibióticos e diminuindo os custos com o tratamento. Pelo fato de haver diferença entre os índices de cura na lactação entre patógenos, como por exemplo, entre *S. agalactiae* e *S. aureus* (Erskine et al., 2002), somente a identificação do agente causador de mastite em determinado rebanho proporcionará dados concretos para a decisão do uso da Blitz Terapia.

Wilson et al. (1999), utilizando uma amostra para diagnóstico microbiológico antes e uma depois do tratamento, demonstraram taxa de cura para *S. agalactiae* de 77%, significativamente maior do que a taxa de cura dos animais não tratados, que foi de 27%. Segundo alguns autores, o padrão de eliminação dos agentes contagiosos da mastite pelas glândulas mamárias infectadas geralmente apresenta variabilidade, de modo que a análise de amostras consecutivas deve ser realizada para aumentar a sensibilidade do exame (Sears et al., 1990; Bartlett e Miller,

1993; Farnsworth, 1993; Godkin e Leslie, 1993). Wilson et al. (1999) afirmam que o fato de terem realizado apenas uma amostra para cultura microbiológica em seu estudo pode ter superestimado a taxa de cura. Por essa razão, tem sido recomendada a avaliação de três amostras consecutivas, coletadas com intervalo semanal, para se considerar a eficácia da Blitz Terapia (Bartlett e Miller, 1993; Farnsworth, 1993; Sears et al., 1993). No presente estudo, o exame das três amostras de leite coletadas por três semanas consecutivas previu maior segurança e confiabilidade nos resultados obtidos. Após a Blitz Terapia, segundo Sol et al. (1997), é importante que sejam realizadas pelo menos duas culturas pós-tratamento, entre os dias 15 e 30, para garantir o status de cura de casos subclínicos de mastite durante a lactação. O experimento realizado por Sol et al. (1997) demonstrou um aumento nas culturas positivas para os microorganismos objetos do tratamento, nas amostras analisadas no segundo exame após o tratamento. Como neste estudo foram realizadas duas culturas pós-tratamento e não foi identificada a ocorrência de *S. agalactiae*, pode-se afirmar como máxima a taxa de cura deste agente com o protocolo utilizado.

4.4 Blitz Terapia contra *S. agalactiae* e CCS

A tabela 4 apresenta o resultado da média de CCS das vacas que receberam Blitz Terapia, nos tempos -7, 14 e 21 dias pós-tratamento.

Tabela 4: CCS média das vacas nos tempos -7, 14 e 21 dias pós- tratamento.

Tempo (dias)	CCS
- 7	763.000 ^a
14	286.000 ^b
21	197.000 ^b

Valores seguidos por letras distintas na mesma coluna diferem entre si pelo teste SNK ($p < 0,05$). CV= 16,07%

As CCS nos tempos 14 e 21 dias, de 286.000 e 197.000 céls/ml, respectivamente, foram significativamente menores ($p < 0,05$) do que a

CCS no tempo - 7, de 763.000 céls/ml. As CCS dos tempos 14 e 21 dias não diferiram estatisticamente. A CCS das vacas tratadas no tempo 21 dias, de 197.000 céls/ml, de acordo com a citação de vários autores, indica mínima ocorrência de infecção intramamária, cujo valor para esta condição deve ser inferior a 200.000 céls/ml (Bramley et al. 1996; Biggs, 1998; Barret, 2002; Lukas et al., 2005). A redução na CCS dos animais tratados foi de 63% aos 14 dias e de 74% aos 21 dias pós-tratamento. A redução na CCS dos animais tratados com a Blitz Terapia pode indicar que o processo inflamatório daquela glândula mamária afetada foi cessado ou reduzido (Kehrli e Shuster, 1994 e Edmonson, 2002). O fato da CCS dos animais tratados neste experimento terem sido reduzidas em 74% e ainda terem apresentado cura microbiológica aos 14 e 21 dias pós-tratamento indica que a infecção por *S. agalactiae* foi eliminada e houve redução no processo inflamatório da glândula mamária.

Num estudo de Erskine e Eberhart (1990), a média de CCS dos rebanhos no mês anterior à terapia foi de 918.000 céls/ml, diferente das médias de CCS 30 dias e 12 meses pós-terapia, que foram de 439.000 e 268.000 céls/ml, respectivamente. Os autores deste trabalho creditam o ótimo resultado à associação da terapia contra *S. agalactiae* com a desinfecção dos tetos pós-ordenha e terapia da vaca seca, que foram implantadas em conjunto com o tratamento na lactação. No rebanho estudado, tais práticas já estavam implantadas há pelo menos seis meses. A Blitz Terapia para erradicação de animais positivos para *S. agalactiae* e o descarte de animais com *S. aureus* apresentam resultados, no geral, bastante positivos; contudo, essas práticas não devem ser vistas como única solução para a prevenção da doença e sim como práticas auxiliares em programas integrados de controle de mastite (Green, 2000; Orpin, 2000). Torna-se importante a adoção de práticas de higiene como pré e pós-dipping, secagem dos tetos com papel-toalha, manutenção e limpeza adequada do equipamento de ordenha e terapia de vaca seca, senão anteriores, ao menos

concomitantes com a implantação da Blitz Terapia. As maiores vantagens da Blitz Terapia são acelerar a redução da prevalência de infecções e a CCS média do rebanho quando comparado com as práticas de pós-dipping e terapia de vaca seca, que apresentam resultados em longo prazo (Erskine e Eberhart, 1990), vantagens estas alcançadas pelo presente estudo aos 21 dias pós-tratamento.

DeGraves e Fetrow (1993) relatam que o tratamento de vacas com *S. agalactiae* durante a lactação deve ser considerado caso o produtor esteja tendo prejuízo relacionado ao mercado de leite, ligado ao pagamento por qualidade. Avaliando o resultado alcançado no presente estudo, de redução média da CCS dos animais de 74%, 21 dias após a Blitz Terapia, essa prática deve ser considerada mesmo nos casos de não enquadramento nos parâmetros de qualidade exigidos pelo mercado.

A tabela 5 demonstra a diferença, em porcentagem, do impacto que cada vaca portadora de infecção por *S. agalactiae* possui na CCS do tanque de refrigeração, antes e depois do tratamento.

Tabela 5: Contribuição média, em porcentagem, de cada vaca portadora de *S. agalactiae* e do total de vacas portadoras na CCS do tanque de refrigeração, antes e depois do tratamento.

% CCS média de contribuição no tanque de refrigeração de vacas portadoras de <i>S. agalactiae</i>	% por vaca portadora	% do total de vacas portadoras
Antes	1,161 ^a	47,04
Depois	0,56 ^b	18,48
Diferença	0,601	28,56

Valores seguidos por letras distintas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de T de Student ($p < 0,04$).

A diferença entre a contribuição, em porcentagem, das vacas portadoras de *S. agalactiae* na CCS do tanque de refrigeração, antes e depois do tratamento foi significativa ($p < 0,04$), sendo essa contribuição maior antes do tratamento (1,161%) e menor depois do tratamento (0,56%). Na soma total, antes do tratamento, os 40 animais positivos para *S. agalactiae* eram responsáveis por 47,04 % da CCS do tanque de refrigeração. Este valor foi reduzido para 18,48% após eliminação do *S. agalactiae*, refletindo a importância do agente como comprometedor da CCS do rebanho e reforçando a afirmativa de Nickerson (2002) de que 7% das vacas são responsáveis por 40% de todos os casos de mastite num rebanho.

Segundo DeGraves e Fetrow (1993), programas de controle utilizando práticas de higiene e manejo adequado para redução da prevalência de *S. agalactiae* podem ser mais viáveis economicamente do que a Blitz Terapia. Caso estes programas de controle não sejam eficientes na redução da prevalência de *S. agalactiae*, justifica-se o tratamento durante a lactação. Os autores, entretanto, não levam em consideração a perda de produção em leite, os altos índices de casos clínicos, a alta CCS do tanque de refrigeração e a permanente fonte de contaminação destas vacas portadoras de *S. agalactiae*. Diante da redução da porcentagem de contribuição para CCS do tanque de refrigeração das vacas tratadas, é possível avaliar o impacto de *S. agalactiae* na qualidade do leite. A Blitz Terapia deve ser considerada nos casos em que a penalização da indústria por alta CCS for economicamente representativa, levando-se em conta a prevalência de animais infectados no rebanho e as perdas relacionadas à produção de leite.

O impacto da Blitz Terapia e do descarte dos animais portadores de *S. aureus* foi avaliado pela CCS do tanque de refrigeração no mês anterior e posterior a essas práticas, como demonstrado na tabela 6.

Tabela 6: CCS do tanque de refrigeração no mês anterior e 21 dias após a Blitz Terapia e descarte dos animais portadores de *S. aureus*.

CCS do tanque de refrigeração (céls/ml)	
Antes	829.000
Depois	513.000

A CCS do tanque de refrigeração, que era de 829.000 céls/ml no mês anterior a Blitz Terapia dos animais portadores de *S. agalactiae* e descarte dos animais portadores de *S. aureus*, foi reduzida para 513.000 céls/ml após 30 dias da realização desses procedimentos. Este resultado é decorrente da redução da CCS individual e da porcentagem de contribuição no tanque de refrigeração dos animais tratados com Blitz Terapia. Goldberg et al. (1991), citado por Keefe (1997), relataram resultados semelhantes: a CCS média de um rebanho de 918.000 céls/ml antes da Blitz Terapia foi reduzida para 439.000 céls/ml, 30 dias após o tratamento.

As duas vacas portadoras de *S. aureus* descartadas respondiam por 0,75% da CCS do tanque de refrigeração. O descarte desses animais, embora não tenha contribuído expressivamente para a redução da CCS do tanque de refrigeração, justifica-se pela característica deste agente de ser altamente contagioso e apresentar reduzida taxa de cura microbiológica, e cuja presença representa importante fator de risco para a ocorrência de mastite. Philpot (1979) relata que a redução na CCS após o tratamento antibiótico e conseqüente eliminação do agente depende da extensão da lesão e do tipo do microorganismo: para bactérias streptococci, ocorre em poucos dias, o que está de acordo com os resultados encontrados neste experimento, cuja redução da CCS se mostrou rápida e expressiva; para bactérias staphylococci, esta média é de meses. A diferença quanto às características de invasão da glândula mamária destes dois tipos de agentes justifica a diferença de tempo de redução da CCS pós-terapia. *S. agalactiae* é agente exclusivo da glândula mamária e possui invasão mais superficial, ao contrário de *S. aureus*, que invade profundamente o tecido mamário e utiliza artifícios como microabscessos como fator de sobrevivência e

proteção, dificultando sua eliminação (Keefe, 1997 e Barret, 2002). Neste estudo, a eliminação de animais portadores de *S. aureus* e o tratamento de vacas portadoras de *S. agalactiae* resultaram em expressiva redução da CCS do tanque de refrigeração.

4.5 Blitz Terapia contra *S. agalactiae* e produção de leite

Não houve diferença ($p>0,05$) na produção de leite nos três meses anteriores e três meses posteriores à Blitz Terapia, como demonstra na tabela 7.

Tabela 7: Produção de leite média dos animais tratados, 3 meses antes e 3 meses depois da Blitz Terapia.

Produção de leite das vacas tratadas	
Antes Blitz Terapia	18,8 ^a
Depois Blitz Terapia	13,7 ^a

Valores seguidos por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de T pareado ($p>0,05$).

Mesmo sendo bastante conhecido o impacto de *S. agalactiae* na produção de leite, os efeitos da Blitz Terapia na produção de leite são variados. Num estudo de Erskine e Eberhart (1990), a produção de leite aumentou em 577 kg de leite na lactação em vacas que receberam a Blitz Terapia e se apresentaram livres de *S. agalactiae* após o tratamento. Ao contrário, outros estudos (Seymour et al., 1989; Reis et al., 2003; Cruz, 2005) não encontraram diferença significativa na produção média de leite entre os períodos anterior e posterior à erradicação do *S. agalactiae*. A diferença encontrada por estes autores esteve relacionada às diferentes fases de lactação dos animais estudados. Buragohain e Dutta (1990), em um experimento testando três tipos de antibióticos para tratamento de mastite subclínica durante a lactação, encontraram, em média, aumento de produção de 0,89 litros leite/vaca/dia após o tratamento, quando este era realizado no início da lactação. As vacas que se apresentavam no final da lactação não apresentaram aumento de produção. Assim, a ausência de impacto da Blitz Terapia na produção de leite neste estudo

pode ser justificada pela fase de lactação na qual os animais tratados encontravam-se; do total de 33 animais tratados, 26 se encontravam na fase 3 de lactação, três se encontravam na fase 2 de lactação e apenas quatro se encontravam na fase 1 de lactação.

Estudos que avaliam o efeito da Blitz Terapia na produção de leite dos animais indicam maiores benefícios deste tipo de tratamento para os animais no começo da lactação. Yagamata et al. (1987), que obtiveram taxa de cura para *S. agalactiae* de 98%, demonstraram haver melhor relação custo-benefício para vacas tratadas no início e meio da lactação, com ganhos de U\$396 e U\$237, sendo que para vacas tratadas no fim da lactação o benefício foi de U\$55. Contudo, esses autores não consideraram o grande impacto destes animais infectados por agentes contagiosos na ocorrência de novas infecções no rebanho; estes são a principal fonte de infecção para animais sadios (Tyler et al., 1992). A redução na ocorrência de casos clínicos, redução na CCS do tanque de refrigeração, redução na necessidade de descarte involuntário de animais e aumento na produção de leite na próxima lactação devem ser considerados quando a opção pela Blitz Terapia está sendo avaliada.

4.6 Escore de sujidade de úbere e CCS

A tabela 8 apresenta os resultados da avaliação de escore de sujidade de úbere nas vacas em lactação.

Tabela 8: Avaliação do escore de sujidade de úbere, em número e porcentagem de vacas por categoria.

Escore de sujidade de úbere	Número de vacas	Porcentagem
1	56	40,6
2	41	29,7
3	15	10,9
4	26	18,8

A média de escore de sujidade do rebanho foi de 2,079. Não foi encontrada correlação

significativa ($p > 0,05$) entre escore de sujidade de úbere e CCS dos animais em lactação. Contrariamente ao presente estudo, Reneau et al. (2003) que conduziram um estudo em nove rebanhos, encontraram a CCS de vacas com úberes limpos (escore 1 e 2) significativamente mais baixa do que a CCS de vacas com úberes sujos (escore 3 e 4). Para cada ponto de aumento no desvio padrão do escore de sujidade de úbere, houve aumento em 0,13 do escore linear de CCS. Os autores citam que, em rebanhos com predominância de patógenos ambientais com CCS média de 400.000 céls/ml, ocorre aumento de 40-50.000 células somáticas/ml para cada unidade a mais no escore de sujidade de úbere.

A ocorrência de mastite pode estar relacionada à quantidade e tipos de bactérias que colonizam a superfície dos tetos e úbere (Galton et al., 1982). Considerando que mais de 70% das vacas deste rebanho possuíam úbere limpo e pouco sujo no momento da avaliação (escore 1 e 2), pode-se considerar baixo o risco de ocorrência de mastite baseado no escore de sujidade de úbere no rebanho estudado: sendo pequena a quantidade de sujidade presente no úbere do animal, pequena também deverá ser a chance de ocorrência de mastite por patógenos que colonizam esta região. Schreiner e Ruegg (2003) afirmam ser baixo o risco nestas condições e que somente os escores mais altos, 3 e 4, estão associados ao maior risco de ocorrência da doença: possuem 1,5 vezes mais chances de apresentarem infecção intramamária. Os programas integrados de controle de mastite são importantes, pois somente um adequado controle da higiene do ambiente de permanência dos animais e também uma adequada desinfecção de tetos antes da ordenha reduzem a quantidade de bactérias e podem evitar que patógenos infectem e colonizem a superfície do úbere e dos tetos. O fato do rebanho avaliado neste estudo possuir condições adequadas de higiene na área de permanência dos animais pode explicar a menor ocorrência de escores de sujidade 3 e 4 e a baixa prevalência de patógenos ambientais.

Em experimento realizado por Schreiner e Ruegg (2003) em oito rebanhos, os pesquisadores encontraram média de escore de sujidade de úbere de 2,09, semelhante à encontrada no presente estudo. A distribuição entre os escores foi de 20,4% para escore 1, 58% para escore 2, 14,2% para escore 3 e 7,4% para escore 4. Os pesquisadores encontraram correlação positiva entre escore de sujidade de úbere e CCS. Nestes rebanhos, a alta prevalência de patógenos ambientais estava diretamente associada a escore de sujidade de úbere.

Após a eliminação dos patógenos contagiosos no rebanho deste estudo, uma provável fonte de infecção para a glândula mamária seria a sujidade presente no úbere, por carrear importantes patógenos ambientais como *Streptococcus sp* e *E. coli* para o interior da glândula. Neste estudo, observou-se baixa prevalência de *E. coli* (3,5%) e de *Streptococcus sp* (15,8%). O fato do rebanho em questão ter apresentado baixa prevalência de patógenos ambientais e de vacas com escores de sujidade acima de 2 e adequada condição de higiene no ambiente de permanência dos animais, pode ter contribuído para a ausência de correlação entre a CCS dos animais e escore de sujidade de úbere.

4.7 Escore de esfíncter de tetos e CCS

A tabela 9 apresenta os resultados da avaliação de escore de esfíncter por quartos mamários.

Tabela 9: Avaliação do escore de esfíncter de tetos, em número e porcentagem de quartos afetados.

Escore de esfíncter de teto	Número de quartos	Porcentagem
0	427	77,36
1	98	17,75
2	13	2,35
3	14	2,54

A média do escore de esfíncter de tetos foi de 1,30. Considerando o grau das lesões dos tetos, apenas 5% dos quartos mamários apresentaram lesões graves de esfíncter de

tetos (escore 3 e 4). Gleeson et al. (2004) encontraram em um experimento com 4.148 quartos, 46% com escore 1, 39% com escore 2 e menos de 0,5% com escore 4. Os autores não verificaram correlação entre a CCS e os escores de esfíncter. A justificativa destes autores é que as propriedades estudadas mantinham controle rigoroso do funcionamento do equipamento de ordenha, fator importante na ocorrência de lesões de esfíncter de tetos.

Um estudo em 15 rebanhos avaliou a correlação entre escore de esfíncter de teto e ocorrência de mastite clínica. A média de escore de esfíncter de tetos dos rebanhos foi de 2,18, variando entre 2,07 e 2,33. Os resultados de quartos mamários demonstraram que 38% deles apresentaram lesões (escore maior que 2), sendo que a variação foi de 24 a 65%. Os quartos mamários que apresentaram casos clínicos de mastite possuíam 0,8% mais lesões de tetos do que os quartos sadios e apontam alto risco de ocorrência de mastite clínica em tetos lesionados (Neijenhuis et al., 2001a). Neste estudo, observou-se baixa ocorrência de lesões de extremidades dos tetos, em frequência e em severidade, possivelmente devido ao fato de que o equipamento de ordenha utilizado na propriedade passava por constantes revisões e manutenções, além da rotina de ordenha ser ajustada de maneira a evitar ao máximo a ocorrência de sobreordenha, o que torna baixo o risco de ocorrência de mastite considerando este parâmetro.

A tabela 10 apresenta os resultados da avaliação de lesões de esfíncter de tetos de vacas em lactação, de acordo com o número de tetos afetados.

Tabela 10: Avaliação de lesões de esfíncter, de acordo com o número de tetos afetados.

Categoria de lesões de esfíncter de tetos	Número de vacas	Porcentagem
1 Nenhum teto afetado	61	44,2
2 1 teto afetado	49	35,5
3 2 tetos afetados	16	11,6

4 3 tetos afetados	4	2,9
5 4 tetos afetados	8	5,8

Diante do fato de que quase 80% das vacas não apresentaram lesão nos tetos ou apresentaram apenas um teto lesionado, o risco de ocorrência de mastite devido a lesões de esfíncter de tetos neste rebanho pode ser considerado baixo, baseado neste parâmetro. De acordo com Seykora e McDaniel (1985), lesões de tetos podem representar risco de ocorrência de mastite porque a não integridade ou enfraquecimento do esfíncter pode ocasionar a entrada de bactérias pelo canal do teto, facilitando a colonização e infecção da glândula mamária. Portanto, não havendo alta prevalência dessas lesões nas condições estudadas, não há risco alto de ocorrência de mastite, considerando este parâmetro. A utilização de práticas de manejo de ordenha adequadas, nas condições deste estudo, podem ter resultado na prevenção de lesões de esfíncter de tetos. A manutenção adequada do equipamento de ordenha e prevenção da sobreordenha podem ter garantido a integridade do esfíncter de tetos das vacas do rebanho estudado e reduzido o risco de colonização dos mesmos por patógenos causadores de mastite.

Não houve correlação entre as categorias de lesões de esfíncter de tetos (número de tetos afetados) e a CCS individual dos animais ($p > 0,05$). Vários estudos apontam não haver correlação entre lesões de esfíncter de tetos e mastite. Graf (1983), citado por Hamman (1987), encontrou 21% de infecção em quartos sem lesões de esfíncter e 19,8% de infecções em quartos com lesões de esfíncter, sem diferença significativa. Hamman (1987) relata não haver relação entre frequência e severidade de lesões de esfíncter de tetos e mastite. Chrystal et al. (1999) e Chrystal et al. (2001) também não encontraram efeito das lesões de esfíncter na CCS dos animais. Sieber e Farnsworth (1981) encontraram 15,8% dos tetos com escore 1; 63,1% com escore 2, 13,8% com escore 3, e 0,3% com escore 4 e apenas para escore 4 os autores relataram haver correlação com a ocorrência de infecções intramamárias. No presente estudo,

entretanto, as análises de CCS foram provenientes de amostras compostas e as avaliações de lesões de esfíncter foram realizadas por tetos, o que justificou a análise dos dados em função do número de tetos afetados por vaca. Em condições de fazenda, a coleta de amostras para CCS de quartos mamários individuais para comparação com os dados de escore de esfíncter de tetos individuais é operacionalmente difícil e onerosa. No intuito de permitir que as observações de lesões de esfíncter de tetos pudessem ser validadas como parâmetro de monitoramento do risco de ocorrência de mastite, a coleta de amostras compostas para CCS juntamente com a utilização dos dados de frequência de lesões de esfíncter de tetos por vacas foi analisada neste estudo. Entretanto, nas condições deste experimento, tal metodologia não se mostrou viável como parâmetro de monitoramento do risco de ocorrência de mastite.

Um estudo com objetivo de avaliar quais fatores de risco são mais importantes na ocorrência de mastite por *S. aureus* não encontrou evidências significativas de que tetos com lesões em suas extremidades possam ser mais predisponentes a este tipo de infecção intramamária (Zadoks et al., 2001). Segundo os autores, apenas aqueles tetos com lesões severas em suas extremidades demonstraram tendência de maior ocorrência de mastite por *S. aureus*, mas mesmo assim, sem diferença estatisticamente significativa.

Lewis et al. (2000), citado por Gleeson et al. (2004), encontraram correlação significativa entre ocorrência de mastite subclínica e lesões de esfíncter de tetos. Lesões de tetos como erosões, fístula, papilomas e hiperqueratose foram estudados como fatores de risco para ocorrência de mastite subclínica e utilizando-se o teste CMT, houve uma significativa associação entre a prevalência da mastite subclínica e as lesões de teto. Os quartos mamários com lesões de tetos apresentaram 7,2 vezes mais probabilidade de se apresentarem positivos no CMT e 5,6 vezes mais probabilidade de crescimento bacteriano (Mulei, 1999). Zecconi et al. (1992)

encontraram aumento da colonização por patógenos ambientais e tendência de aumento de novas infecções intramamárias em tetos que tiveram aumento de espessura da extremidade em mais de 5%. Já Zecconi et al. (1996) encontraram significativo aumento de novas infecções intramamárias, com o aumento de 5% na espessura das extremidades dos tetos. Contudo, a ausência de correlação entre as categorias de lesões de esfíncter de tetos (número de tetos afetados) e a CCS individual dos animais encontrada neste estudo, indica que a utilização deste parâmetro não é viável para monitoramento do risco de ocorrência de mastite.

5. CONCLUSÕES

O controle dos patógenos contagiosos causadores de mastite, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, mostrou-se viável, resultando em redução da CCS do tanque de refrigeração.

A associação de penicilina e novobiocina intramamária demonstrou-se eficaz na cura microbiológica de vacas portadoras de *S. agalactiae* e na redução da CCS aos 14 e 21 dias após o tratamento.

Em rebanhos de baixa frequência e severidade de lesões de esfíncter de tetos e baixa ocorrência de escore de sujidade de úbere, tais parâmetros não se mostram viáveis para o monitoramento de ocorrência de mastite.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAKKEN, G. *Relationships between udder and teat morphology, mastitis and milk production in Norwegian*. 1981. Red Cattle. Acta Agric. Scand., v. 31, p. 28.

BAR-MOSHE, B.; WEISS, I.; ABUHANNA, F.; et al. *A regional program for eradication of Streptococcus agalactiae in Israel dairy herds*. 1987. Isr.J. Vet. Med, v. 43, p. 236-241.

BARBERIO, A.; RAVAROTTO, L.; TURILLI, C. *Programa de luta contra a mastite bovina realizado no nordeste da Itália*

- (região do Veneto). 1999. Revista Napgama - Ano II- no 6, p.7-11.
- BARKEMA, H. W.; SCHUKKEN, Y. H.; LAM, T. J. G. M.; et al. *Management practices associated with low, medium, and high somatic cell counts in bulk milk*. 1998. Journal of Dairy Science, v. 81, p. 1917-1927.
- BARRET, D. *High somatic cell counts- a persistent problem*. 2002. *Irish Veterinary Journal*, v. 55, n. 4, p. 173- 178.
- BARTLETT P. C.; MILLER G. Y.; ANDERSON, C. R. et al. *Milk production and somatic cell count in Michigan dairy herds*. 1990. Journal of Dairy Science, v. 73, p. 2794-2800.
- BARTLETT P. C. e MILLER G. Y. *Mastitis microbiology: what is considered normal?* 1993. *Agri-Practice*, v. 14, n. 6, p. 12-14.
- BIGGS, A. *Mastitis therapy on farm- keeping up with the moving goal posts*. 1998. *Proceedings of the British Mastitis Conference*, p. 15-21.
- BLACKBURN, P. S. *Antibiotic treatment of mastitis and its effect on the cell content of the milk*. 1956. *J. Dairy Res.*, v. 23, p. 225-227.
- BOOTH, J. M. *Milk quality and mastitis control in the United Kingdom and European Union*. 1996. IN: Proc. 35o Annu. Mtg. Natl. Mastitis Council, Nashville, TN, p. 33.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº51 de 18 de setembro de 2002. *Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A, do Leite Tipo B, do Leite Tipo C, do Leite Pausterizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu transporte a Granel*. Diário Oficial da União, Brasília, 18 de setembro de 2002. Seção 3. disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/das/dipoa/in51.htm>. Acesso em 01 jan. 2008.
- BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; SOUZA, H.M.; et al. *Avaliação da sensibilidade da cultura de leite do tanque para isolamento de agentes contagiosos da mastite bovina*. 1998. *Pesq Vet. Bras.*, v. 18, n. 1, p. 39-44.
- BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO, M. T.; et al. *Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação*. 1999. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.51, n.2, p.129-135.
- BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F. *Diagnóstico microbiológico da mastite*. Juiz de Fora, MG: Embrapa Gado de Leite, 1999. 26 p. (Embrapa Gado de Leite. Circular Técnica, 55).
- BRITO, J. R. F. *Coleta de amostra de leite para determinação da composição química e contagem de células somáticas*. 2001. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite. 16 p. (Embrapa Gado de Leite. Circular técnica, 62).
- BRAMLEY A. J.; CULLOR J. S.; ERSKINE R. J.; et al. *Current Concepts of Bovine Mastitis*. 1996. 4th ed. National Mastitis Council, Madison. 64p.
- BROOKS, D. W.; BARNUM, D. A.; MEEKS, A. H. *A survey of mastitis in selected Ontario dairy herds*. 1982. *Canadian Veterinary Journal*, v. 23, p. 156-159.
- BROWN, D. F.; ARDAYA, D. V.; RIBERA, H. C.; et al. *Mastitis control programme in the developing dairy industry of tropical lowland Bolivia*. 1998. *Tropical Animal Health and Production*, v. 30, p. 3-11.
- BURAGOHAJAIN, J. e DUTTA, G. N. *Increased milk yield through treatment of bovine subclinical mastitis and its economic implications*. 1990. *Indian Journal of Animal Sciences*, v. 60, n. 8, p. 965-966.

- CHRYSTAL, M. A.; SEYKORA, A. J.; HANSEN, L. B. *Heritabilities of Teat End Shape and Teat Diameter and Their Relationships with Somatic Cell Score*. 1999. *Journal of Dairy Science*, v. 82, p. 2017–2022.
- CHRYSTAL, M. A.; SEYKORA, A. J.; HANSEN, L. B. *Heritability of Teat-End Shape and the Relationship of Teat-End Shape with Somatic Cell Score for an Experimental Herd of Cows*. 2001. *Journal of Dairy Science*, v. 84, p. 2549–2554.
- COLDEBELLA, A. *Contagem de células somáticas e produção de leite em vacas holandesas confinadas*. 2003. Tese (doutorado) -Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz- Piracicaba, 99p.
- CRUZ, J. C. M. *Eficiência da erradicação do Streptococcus agalactiae de rebanhos bovinos leiteiros*. 2005. 40p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- CULLOR, J. S. *The control, treatment, and prevention of the various types of bovine mastitis*. 1993. *Vet. Med. Food Anim. Pract.*, v.88, p. 571-579.
- DABDOUB, S.A.M.; SHOOK, G.E. *Phenotypic relations among milk yield, somatic cell count, and clinical mastitis*. 1984. *Journal of Dairy Science*, v.67, p.163-164, Suplemento 1.
- DEGRAVES, J. e FETROW, J. *Economics of mastitis and mastitis control*. 1993. *Veterinary Clinic of North America: Food Animal Practice*, v.9, n.3, p. 421-433.
- DODD, F. H.; WESTGARTH, D. R.; NEAVE, F. K.; KINGWILL, R. G. *Mastitis-the strategy of control*. 1969. *Journal of Dairy Science*, v.52, p. 689-695.
- DODD, F. H. *Mastitis – Progress on Control*. 1982. *Journal of Dairy Science*, v. 66, p. 1773-1780.
- EDMONSON, P. W. *Influence of milking machines on mastitis*. 2001. *In Practice*, v. 23, p. 150-159.
- EDMONSON, P. W. Estratégias para a produção de leite de alta qualidade. In: Congresso Brasileiro de Qualidade de Leite e Controle de Mastite, 2., 2002, Ribeirão Preto. Anais... Ribeirão Preto, 2002. p.61-69.
- EMANUELSON, U.; FUNKE, H. *Effect of milk yield on relationship between bulk milk somatic cell count and prevalence of mastitis*. 1991. *Journal of Dairy Science*, v. 74, p. 2479-2483.
- ERSKINE, R. J. e EBERHART, R. J. *Herd benefit-to-cost ratio and effects of a bovine mastitis control program that includes blitz treatment of Streptococcus agalactiae*. 1990. *Food animal economics/JAVMA*, v. 196, n. 8, p. 1230-1235.
- ERSKINE, R. J. *Mastitis control in dairy herds with high prevalence of subclinical mastitis*. 1992. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.*, v.14, p. 969-975.
- ERSKINE, R. J.; KIRK, J. H.; TYLER, J. W. e DEGRAVES, F. J. *Advances in the therapy for mastitis*. 1993. *The Veterinary Clinics of North America, Update on Bovine Mastitis*. W. B. Saunders Co., Philadelphia, PA, v. 9, n. 3, p. 499–517.
- ERSKINE, R. J.; WALKER, R. D.; BOLIN, C. A.; et al. *Trends in bacterial susceptibility of mastitis pathogens during a seven-year period*. 2002. *Journal of Dairy Science*, v. 85, p. 1111-1118.
- FALKENBERG, U.; TENHAGEN, B. A.; BAUMGÄRTNER, B.; et al. *Relationship between morphological characteristics of the teat duct and prevalence of intramammary infections with Streptococcus agalactiae in dairy cows*. 2004. *Dtsch Tierärztl Wochenschr*, v. 111, n. 9, p. :355-358.

- FARNSWORTH R. J. *Microbiologic examination of bulk tank milk*. 1993. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v. 9, n. 3, p. 469-474.
- FARNSWORTH, R. J. *Observations on teat lesions*. 1995. In *Proc. Minnesota Dairy Health Conf.*, p. 28-33, University of Minnesota, Minneapolis, MN.
- FERGUSON J. D.; AZZARO G.; GAMBINA M.; et al. *Prevalence of mastitis pathogens in Ragusa, Sicily, from 2000 to 2006*. 2007. *Journal of Dairy Science*, v. 90, n. 12, p. 5798-813.
- FONSECA, L. F. L. e SANTOS, M. V. *Qualidade do leite e controle da mastite*. 2000. São Paulo: Lemos Editorial, 175 p.
- FOX, L. K. e HANCOCK, D. D. *Effect of segregation on prevention of intramammary infections by Staphylococcus aureus*. 1989. *Journal of Dairy Science*, v. 72, p. 540-544.
- GALTON, D. M.; ADKINSON, R. W.; THOMAS, C. V.; et al. *Effects of premilking udder preparation on environmental bacterial contamination of milk*. 1982. *J. Dairy Sci.* 65:1540.
- GLEESON, D. E.; O'CALLAGHAN, E. J.; RATH, M. *The effects of genotype, milking time and teat-end vacuum pattern on the severity of teat-end hyperkeratosis*. 2003. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, v. 42, n. 2, p. 195-203.
- GLEESON, D. E.; MEANEY, W. J.; O'CALLAGHAN, E. J.; et al. *Effect of Teat Hyperkeratosis on Somatic Cell Counts of Dairy Cows*. 2004. *Intern J Appl Res Vet Med*, v. 2, n. 2.
- GODKIN M. A. e LESLIE K. E. *Culture of bulk tank milk as a mastitis screening test: a brief review*. 1993. *Can. Vet. J.*, v. 34, p. 601-605.
- GODKIN, A. *Qualidade do leite ao redor do mundo: o papel da CCS*. In: *Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite*, 2, 2000, Curitiba. Anais... Curitiba: CIETEP/FIEP, 2000. p. 9-20.
- GOLDBERG, J. J.; PANKEY, J. W.; DRECHSLER, P. A.; et al. *An update survey of bulk tank milk quality in Vermont*. 1991. *J. Food Protect*, v. 54, p. 549-553.
- GOODGER, W. J.; YAMAGATA, M.; WEAVER, L.; et al. *Using simulation modeling to assess the benefit of lactational therapy for subclinical Streptococcus agalactiae mastitis*. 1988. *Acta Vet Scand Suppl.*, v.84, p. 377-80.
- GRAF, D. *Untersuchungen uber melkmashinenbedingte Lasionen der Zitzenenden des Rindes*. 1983. *Vet. Med. Diss. Univ. Munchen*.
- GREEN, M. *Treating bovine mastitis*. 2000. *Cattle Practice*, v. 8, p. 183-184.
- HAMMAN, J. *Effect of machine milking on teat end condition- a literature review*. 1987. In: *Machine milking and mastitis*, *Bull. Int.Fed*, v. 215, p. 33-49.
- HAMMAN, J. e MEIN, G. A. *Responses of the bovine teat to machine milking: measurement of changes in thickness of the teat apex*. 1988. *Journal of Dairy Research*, v. 55, p. 331-338.
- HAMMAN, J.; BURVENICH, C.; MAYNTZ, M.; et al. *Machine-induced changes in the status of the bovine teat with respect to the new infection risk*. 1994. In: *Bull*, n. 297, p. 13-22, *Int. Dairy Fed.*, Brussels, Belgium.
- HUTTON, C. T.; FOX, L. K.; HANCOCK, D. D. *Mastitis control practices: differences between herds with high and low milk somatic cell counts*. 1990. *Journal of Dairy Science*, v. 73, p. 1135-1143.

- JACKSON, V. I. *An outbreak of teat scores in a commercial dairy herd possibly associated with milking machine faults*. 1970. *Vet. Rec.*, v. 87, p.2.
- KEEFE, G. P. *Streptococcus agalactiae mastitis: a review*. 1997. *Canadian Veterinary Journal*, v. 38, p. 429-437.
- KEEFE, G. P.; DOHOO, L. R.; SPANGLER, E. *Herd prevalence and incidence of Streptococcus agalactiae in the dairy industry of Prince Edward Island*. 1997. *Journal of Dairy Science*, v. 80, p. 464-470.
- KEHRLI, M. e SHUSTER, D. E. *Factors Affecting Milk Somatic Cells and Their Role in Health of the Bovine Mammary Gland*. 1994. *Journal of Dairy Science*, v. 77, p. 619-627.
- KING, J. O. L. *The effects of different bacterial infections causing mastitis on the yield and quality of cow's milk*. 1969. *The British Veterinary Journal*, v. 125, n.2, p. 57-62.
- LANGLOIS, B. E.; COX, JR., J. S.; HEMKEN, R. H.; et al. *Milking Vacuum Influencing Indicators of Udder Health*. 1981. *Journal of Dairy Science*, v. 64, p. 1837-1842.
- LEWIS, S.; COCKCROFT, P. D.; BRAMLEY, R. A.; et al. *The likelihood of subclinical mastitis in quarters with different types of teat lesions in the dairy cow*. 2000. *Cattle Practice*, v. 8, p. 293-299.
- LUKAS, J. M.; HAWKINS, D. M.; KINSEL, M. L.; et al. *Bulk tank somatic cell counts analyzed by statistical process control tools to identify and monitor subclinical mastitis incidence*. 2005. *Journal of Dairy Science*, v. 88, p. 3944-3952.
- MAGALHÃES, H. R.; EL FARO, L.; CARDOSO, V. L.; et al. *Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça holandesa*. 2006. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 35, n. 2, p. 415-421.
- McDERMOTT, M. P.; ERB, H. N.; NATZKE, R. P.; et al. *Cost Benefit Analysis of Lactation Therapy with Somatic Cell Counts as Indications for Treatment*. 1983. *Journal of Dairy Science*, v. 66, p. 1198- 1203.
- McLEOD, D. H. e WILSON, S. M. *Milk yield in relation to infection with Streptococcus agalactiae*. 1951. *Journal of Dairy Research*, v. 18, p. 235.
- MEIN, G. A.; NEINJENHUIS, F.; MORGAN, W. F.; et al. *Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds: 1-Non-infections factors*. 2001. Research Institute for Animal Husbandry. Lelystad, The Netherlands. Retirado do site <http://uwex.edu/milkquality>, em 17/07/06.
- MULEI, C. M. *Teat lesions and their relationship to intramammary infections on small-scale dairy farms in Kiambu district in Kenya*. 1999. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, v. 70, n. 4, p. 156-157.
- MURPHY, J. M. *Mastitis- the struggle for understanding*. 1956. *Journal of Dairy Science*, v. 39, p. 1768-1773.
- NATZKE, R. P.; EVERETT, R. W.; GUTHRIE, R. S.; et al. *Mastitis control program: effect on milk production*. 1972. *Journal of Dairy Science*, v. 55, n. 9, p. 1256-1260.
- NATZKE, R. P. *Elements of mastitis control*. 1981. *Journal of Dairy Science*, v.64, p. 1431-1442.
- NEAVE, F. K.; DODD, F. H.; KINGWILL, R. G. *A method on controlling udder disease*. 1966. *Veterinary Record*, v. 78, n. 15, p. 521-522.
- NEIJENHUIS, F.; BARKEMA, H. W.; HOGEVEEN, H.; et al. *Classification and longitudinal examination of callused teat ends*

in dairy cows. 2000. Journal of Dairy Science, v. 83, p. 2795-2804.

(a)NEIJENHUIS, F.; BARKEMA, H. W.; HOGEVEEN, H.; et al. *Relationship between teat-end callosity and occurrence of clinical mastitis*. 2001. Journal of Dairy Science, v. 84, p. 2664-2672.

(b)NEIJENHUIS, F.; MEIN, G. A.; BRITT, J. S.; et al. *Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds: 4. Relationship between teat-end callosity or hyperkeratosis and mastitis*. 2001. Proceedings, AABP-NMC International Symposium on Mastitis and Milk Quality, Vancouver, BC, Canada, p. 362-366.

NEIJENHUIS, F.; MEIN, G. A.; BRITT, J. S.; et al. *Relationship between teat-end callosity or hyperkeratosis and mastitis*. 2003. Retirado do site: http://www.milkproduction.com/Library/Articles/Relationship_between_teat_end_callosityor_hyperkeratosis_and_mastitis.htm Published: Março 26, 2003.

NICKERSON, S. C. *Bovine mammary gland—structure and function—relationship to milk production and immunity to mastitis: review*. 1994. Agric. Pract., v. 15, p. 8–18.

NICKERSON, S. C. *O papel da terapia no controle da mastite*. In: Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite e Controle de Mastite, 2, 2002, Ribeirão Preto. Anais... Ribeirão Preto: Instituto Fernando Costa, p. 85-98.

OMORE, A. O.; McDERMOTT, J. J.; ARIMI, S. M.; KYULE, M. N. et al. *A longitudinal study of milk somatic cell counts and bacterial culture from cows on smallholder dairy farms in Kiambu District, Kenya*. 1996. Preventive Veterinary Medicine, v. 29, p. 77-89.

OMORE, A. O.; McDERMOTT, J. J.; ARIMI, S. M.; KYULE, M. N. *Impact of mastitis control measures on milk production and mastitis indicators in smallholder dairy farms in Kiambu District, Kenya*. 1999. Tropical

Animal Health and Production, v.31, p. 347-361.

O'SHEA, J. *Machine milking factors affecting mastitis- a literature review*. 1987. In: Bull, n. 215, p. 5-32, Int. Dairy Fed., Brussels, Belgium.

ORPIN, P. *A practicing vets approach to the high cell count herd*. 2000. Proc. British Mastitis Conf., Institute for Animal Health/Milk Development Council, p. 14-21.

OWENS, W. E.; RAY, C. H.; WATTS, J. L.; et al. *Comparison of success of Antibiotic Therapy During Lactation and Results of Antimicrobial Susceptibility Tests for Bovine Mastitis*. 1997. Journal of Dairy Science, v. 80, p. 313-317.

PETERSON, K. J. *Mammary tissue injury resulting from improper machine milking*. 1964. American Journal Veterinary Research, v. 25, p. 1002.

PHILPOT, W.N. *Role of therapy in mastitis control*. 1969. Journal of Dairy Science, v. 52, n. 5, p. 708-713.

PHILPOT, W.N. *Control of mastitis with hygiene and therapy*. 1979. Journal of Dairy Science, v. 62, p. 168-176.

PHILPOT, W.N. *Economics of mastitis control*. 1984. Veterinary Clinic North America, v. 6, p. 233-245.

PITKALA, A.; HAVERI, M.; PYORALA, S.; et al. *Bovine Mastitis in Finland 2001—Prevalence, Distribution of Bacteria, and Antimicrobial Resistance*. 2004. Journal of Dairy Science, v. 87, p. 2433–2441.

POUTREL, B. e RAINARD, P. *Predicting the probability of quarter infection (by major pathogens) from somatic cell concentration*. 1982. Am. J. Vet. Res., v. 43, p. 1296-1299.

REIS, S. R.; SILVA, N.; BRESCIA, M. V. *Antibioticoterapia para controle da mastite*

- subclínica de vacas em lactação*. 2003. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.55, n.6, p.651-658.
- REKSEN, O.; SØLVERØD, L.; ØSTERAS, O. *Relationships Between Milk Culture Results and Milk yield in Norwegian Dairy Cattle*. 2007. Journal of Dairy Science, v. 90, p. 4670-4678.
- RENEAU, J. K.; SEYKORA, A. J.; HEINS, B. J.; et al. *Relationship of cow hygiene scores and SCC*. 2003. In: Proc. Natl. Mast. Coun., Madison, WI, p. 362–363.
- SCHREINER, D. A. e RUEGG, P. L. *Relationship Between Udder and Leg Hygiene Scores and Subclinical Mastitis*. 2003. J. Dairy Sci. 86:3460–3465.
- SCHUKKEN, Y. H.; LESLIE, K. E.; WEERSINK, A. J.b; et al. *Ontario bulk milk somatic cell count reduction program: Impact on somatic cell counts and milk quality*. 1992. Journal of Dairy Science, v.75, p. 3352-3358.
- SEARS P. M.; SMITH B. S.; ENGLISH, P. B.; et al. *Shedding pattern of Staphylococcus aureus from bovine intramammary infections*. 1990. Journal of Dairy Science, v. 73, n. 10, p. 2785-2789.
- SEARS P. M.; GONZÁLEZ R. N.; WILSON D. J. et al. *Procedures for mastitis diagnosis and control*. 1993. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, v. 9, n. 3, p. 445-468.
- SEYKORA, A. J. e McDANIEL, B. T. *Udder and Teat Morphology Related to Mastitis Resistance: A Review*. 1985. Journal of Dairy Science, v. 68, p. 2087-2093.
- SEYMOUR, E. H.; JONES, G. M.; MCGILLIARD, M. L. *Effectiveness of Intramammary Antibiotic Therapy Based on Somatic Cell Count*. 1989. Journal of Dairy Science, v. 72, p. 1057-1062.
- SHEARN, M. F. e HILLERTON, J. E. *Hyperkeratosis of the teat duct orifice in the dairy cow*. 1996. Journal Dairy Research, v. 63, p. 525-532.
- SIEBER, R. L.; FARNSWORTH, R. J. *Prevalence of chronic teat end lesions and their relationship to intramammary infection in 22 herds of dairy cattle*. 1981. JAVMA, v. 178, p. 1263-1267.
- SMITH, A. R. e WARD, G. E. *Evaluation of methods for control of Streptococcus agalactiae in dairy herds*. 1975. Can. Vet. J., v. 16, p. 109-113.
- SOL, J.; SAMPIMON, O. C.; SNOEP, J. J.; SCHUKKEN, Y. H. *Factors Associated with Bacteriological Cure During Lactation After Therapy for Subclinical Mastitis Caused by Staphylococcus aureus*. 1997. Journal of Dairy Science, v. 80, p.2803–2808.
- TENHAGEN, B. A.; KÖSTER, G.; WALLMANN, J., et al. *Prevalence of Mastitis Pathogens and Their Resistance Against Antimicrobial Agents in Dairy Cows in Brandenburg, Germany*. 2006. Journal of Dairy Science, v. 89, p. 2542-25.
- THORNSBERRY, C.; BURTON, P. J.; YEE, Y.C.; et al. *The activity of a combination of penicillin and novobiocin against bovine mastitis pathogens: development of a disk diffusion test*. 1997. Journal of Dairy Science, v. 80, p. 413-421.
- TIMMS, L. L.; ACKERMANN, M.; KEHRLI, M. *Characterization of teat end lesions observed on dairy cows during winter*. 1997. Nat. Mast. Council Meet., p.204–209.
- TYLER, J.W.; WILSON, R.C.; DOWLING, P. *Treatment of subclinical mastitis*. 1992. Vet. Clin. North Am: Food Anim. Pract., v. 8, p. 17-27.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. *SAEG Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas: manual do usuário*. 2000. Versão 8.0. Viçosa, 142 p.

- VIANA, F. A. B. *Fundamentos da terapêutica veterinária*. 2000. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, ed 2000.
- WARD, W. R. e SCHULTZ, L. H. *Relationship of Somatic Cells in Quarter Milk to Type of Bacteria and Production*. 1972. *Journal of Dairy Science*, v. 55, n. 10, p. 1428-1431.
- WARD, W. R.; HUGHES, J. W.; FAULL, W. B.; et al. *Observational study of temperature, moisture, pH and bacteria in strawbedding, and faecal consistency, cleanliness and mastitis in cows in four dairy herds*. 2002. *Vet. Rec.*, v. 151, p. 199-206.
- WEAVER, L. D.; GALLAND, J.; MARTIN, P.A.J., et al. *Treatment of S. agalactiae mastitis in dairy cows: comparative efficacies of two antibiotic preparation and factors associated with successful treatment*. 1986. *J.Am.Vet.Med.Assoc.*, v. 189, p. 666-669.
- WILSON, D. J.; GONZALEZ, R. N.; SEARS, P. M. *Segregation or use of separate milking units for cows infected with Staphylococcus aureus: effects on prevalence of infection and bulk tank somatic cell count*. 1995. *Journal of Dairy Science*, v. 78, p. 2083-2085.
- WILSON, D. J.; GONZALEZ, R. N.; DAS, H. H. *Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania: prevalence and effects on somatic cell count and milk production*. 1997. *Journal of Dairy Science*, v. 80, p. 2592-2598.
- WILSON, D. J.; CASE, K. L.; GONZALEZ, R. N.; et al. *Bacteriologic cure rates for bovine mastitis cases with no treatment or with eight different antibiotics*. 1998. *National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings*, v. 37, p. 273-274.
- WILSON, D. J.; GONZALEZ, R. N.; CASE, K. L.; et al. *Comparison of Seven Antibiotic Treatments with No Treatment for Bacteriological Efficacy Against Bovine Mastitis Pathogens*. 1999. *Journal of Dairy Science*, v. 82, p.1664-1670.
- YAMAGATA, M. , GOODGER, W. J.; WEAVER, L.; FRANTI, C. *The economic benefit of treating subclinical Streptococcus agalactiae mastitis in lactating cows*. 1987. *Journal American Veterinary Medicine Association*, v. 191, n. 12, p. 1556-1561.
- ZADOKS, R. N.; ALLORE, H. G.; BARKEMA, H. W.; et al. *Cow- and Quarter-Level Risk Factors for Streptococcus uberis and Staphylococcus aureus Mastitis*. 2001. *Journal of Dairy Science*, v. 84, p. 2649-2663.
- ZECCONI, A.; HAMANN, J.; BRONZO, V.; et al. *Machine-induced teat tissue reactions and infection risk in a dairy herd free from contagious mastitis pathogens*. 1992. *Journal of Dairy Research*, v. 59, n. 3, p. 265-271.
- ZECCONI, A.; BRONZO, V.; PICCININI, R. *Field study on the relationship between teat thickness changes and intramammary infections*. 1996. *Journal of Dairy Research*, v. 63, n. 3, p. 361-368.
- ZECCONI, A. e PICCININI, R. *Teoria e prática de controle de mastite por Staphylococcus aureus*. 1999. *Revista Nagama*, ano II, n. 5, p. 4 a 11.

Anexo 1: Composição da fórmula do medicamento Tetra-Delta®

Cada 10 mL contém:

Acetato de hidrocortisona	20,0 mg
Succinato sódico de hidrocortisona	12,5 mg
Penicilina G procaína	100.000 UI
Novobiocina (como novobiocina sódica)	150,0 mg
Sulfato de polimixina B	50.000 UI
Diidroestreptomicina base (como sulfato)	100,0 mg
Clorobutanol anidro	50,0 mg
Veículo q.s.p	10,0 mL

Anexo 2: Padrão de classificação dos escores de sujidade de úbere



Anexo 3: Padrão de classificação dos escores de esfíncter de tetos

